T.C
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİYALİZ HASTALARINDA VEGF RS699947 POLİMORFİZMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Nisrin Mohamed H. BEN OSMAN

Danışman	**Yrd. Doç. Dr. Asuman ÖZGÖZ**
Jüri Üyesi	**Doç. Dr. Ergin Murat ALTUNER**
Jüri Üyesi	**Yrd. Doç. Dr. Kuyaş HEKİMLER ÖZTÜRK**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

KASTAMONU-2018

TEZ ONAYI

Nisrin M. BEN OSMAN tarafından hazırlanan **"Diyaliz Hastalarında VEGF rs699947 Polimorfizminin Değerlendirilmesi"** adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve **oy birliği ile** Kastamonu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, **Biyoloji Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Yrd. Doç. Dr. Asuman ÖZGÖZ Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Ergin Murat ALTUNER Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Yrd. Doç. Dr. Kuyaş HEKİMLER ÖZTÜRK Süleyman Demirel Üniversitesi	.....

09/01/2018

Enstitü Müdür V. Doç. Dr. Mehmet Altan KURNAZ .....

TAAHHÜTNAME

Bu tezdeki tüm bilgiler, Kastamonu Üniversitesi ahlaki davranışlar ve akademik yönetmeliklerine göre yazılmış olup, bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve rapor, bilgi ve taahhüt kaynağına atıfta bulunularak Kastamonu Üniversitesi tez kurallarına uygun olarak hazırlanmıştır.

İmza
Nisrin Mohamed. BEN OSMAN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DİYALİZ HASTALARINDA VEGF RS699947 POLİMORFİZMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Nisrin Mohamed. BEN OSMAN

Kastamonu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Asuman ÖZGÖZ

Son Dönem Böbrek Hastalığı (SDBH), insidansı ve prevalansındaki belirgin artış nedeniyle dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunu olarak ortaya çıkmıştır. "SDBH"nın ortaya çıkmasına sebep olan birçok çevresel ve genetik faktör vardır. Vasküler endotelyal büyüme faktörünün (VEGF) böbrek patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir. Bu çalışmanın amacı, bir Türk popülasyonunda "SDBH" ve vasküler endotelyal büyüme faktörü "VEGF rs699947" gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi tespit etmektir. Genotipleme, 50 "SDBH" hastası ve 30 sağlıklı kontrolde, Kompetitif Alel Spesifik PCR (KASP) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızın sonuçları, olgu ve kontrol grupları arasında, yaş ve serum kreatinin açısından anlamlı farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur (P=0.000). A'nın minör (riskli) alel olduğu göz önüne alındığında, AA genotip frekansının kontrol grubunda vaka grubuna kıyasla yüksek olduğu gözlenmiş ve Türk popülasyonunda AA genotipinin "SDBH" için koruyucu bir faktör olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: VEGF, rs699947, SDBH, SNP, diyaliz.

2018, 58 Sayfa
Bilim Kodu: 203

ABSTRACT

MSc. Thesis

EVALUATION OF VEFG GENE rs699947 POLYMORPHISM IN DIALYSIS PATIENTS

Nisrin Mohamed .BEN OSMAN

Kastamonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Asuman ÖZGÖZ

End-Stage Renal Disease (ESRD) has emerged as an important public health issue worldwide, because of the marked increase in its incidence and prevalence. There are many environmental and genetic factors contribute to the occurrence of *End-Stage Renal Disease*. Vascular endothelial growth factor "VEGF" has been reported to play a major role in renal pathophysiology. The aim of this study was to determine the association between "End-Stage Renal Disease" and "VEGF rs699947 polymorphism" in a Turkish population. Genotyping was carried out in 50 "ESRD" patients and 30 healthy controls, using Kompetitive Allelic-Specific PCR (KASP) method. Our study`s results revealed that there are significant differences between case and control groups in terms of age and serum creatinine (all the P=0.000). Considering that A is the minor (risky) allele and it was observed that the frequency of AA genotype was high in the control group compared to case group, it was suggested that AA genotype may be a protective factor for ESRD in Turkish population.

Keywords: VEGF, rs699947, ESRD, SNP, dialysis.

Year 2018, 58 pages
Science Code:203

TEŞEKKÜR

Bu tez, birçok kişinin nazik desteği ve yardımı ile ortaya çıkmıştır. Hepsine içten teşekkürlerimi sunmak isterim. Öncelikle, bu araştırmayı bitirmek için bana verdiği bilgelik, güç, iç huzur ve sağlıktan dolayı çalışmamı Yüce ALLAH'a adamak isterim. Ülkeme (Libya) ve üniversitem "TRIPOLI Üniversitesine", bana bu şansı verdikleri için içten minnettarlığımı sunarım.

Ayrıca, bu yüksek lisans tezinin öğrenme sürecindeki faydalı yorumları, sabrı, görüşleri ve yardımlarından dolayı danışmanım Yrd. Doç. Dr. Asuman ÖZGÖZ'e içten şükranlarımı sunarım. Rehberliği, bu tezin araştırma ve yazımının her anında bana yardımcı olmuştur.

Bu tezin tamamlanmasındaki cesaretlendirmeleri için babam Mohammed BEN OSMAN'a ve annem Aisha AL-HAME'ye içten şükranlarımı sunarım.

Ayrıca eşim Marwan ALHEMSHERI'ye, kardeşlerime ve arkadaşlarıma teşekkür etmek isterim; beni her zaman iyi dilekleriyle desteklemiş ve cesaretlendirmişlerdir. Son olarak, Kastamonu Üniversitesi'nin tüm üyelerine teşekkür etmek isterim.

Nisrin Mohamed. H. BEN OSMAN
Kastamonu, Ocak, 2018

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iii
ABSTRACT iv
TEŞEKKÜR v
İÇİNDEKİLER vi
SEMBOLLER VE KISALTMALAR ix
ŞEKILLER DİZİNİ xi
TABLOLAR DİZİNİ xii
GRAFİKLAR DİZİNİ xiii
1. GİRİŞ 1
1.1. Böbrek Fonksiyonu 1
1.2. Böbrek Yetmezliği 2
1.3. Akut Böbrek Yetmezliği 2
1.3.1. Kronik Böbrek Hastalığı (KBH) 3
1.3.2. KBH'de GFR Ölçümü 3
1.3.2.1. KBH'nın Sınıflandırılması/Evrelendirilmesi 4
1.3.2.2. KBH için Risk Faktörleri 4
1.3.2.3. KBH'nin Komplikasyonları 5
1.4. Son Dönem Böbrek Hastalığı (SDBH) 6
1.5. Diyaliz 6
1.5.1. Diyalizdeki Hastalarda Mortalite 7
1.5.2. Hemodiyaliz (HD) 7
1.5.2.1. Hemodiyalizde Damar Yolu Çeşitleri 7
1.5.2.1.1. Arteriovenöz fistül (AVF) 7
1.5.2.1.2. Arteriovenöz greft (AVG) 8
1.5.2.1.3. Santral venöz kateterler (SVKler) 8
1.5.2.2. HD'nin Komplikasyonları 9
1.5.3. Periton Diyalizi (PD) 10
1.5.3.1. Periton diyaliz çeşitleri 10
1.5.3.1.1. Sürekli ayaktan periton diyalizi "SAPD 10
1.5.3.1.2. Otomatik periton diyalizi (OPD) 11

1.5.3.2. Periton diyalizinin (PD) komplikasyonları..... 11
1.6. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)..... 12
1.6.1. VEGF Biyolojisi..... 12
1.6.2. VEGF Familyası..... 12
1.6.2.1. VEGF-A..... 13
1.6.2.2. VEGF-B..... 14
1.6.2.3. VEGF-C..... 14
1.6.2.4. VEGF-D..... 14
1.6.2.5. VEGF-E..... 15
1.6.2.6. Plasental Büyüme Faktörü (P1GF)..... 15
1.6.3. VEGF Reseptörleri..... 15
1.6.3.1. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptörü 1 (VEGFR-1) (Flt-1)..... 15
1.6.4. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptörü 2 (VEGFR 2) (Flk-1/KDR)..... 16
1.6.5. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptörü 3 (Flt-4)..... 16
1.6.5.1. Nöropilinler..... 17
1.6.6. VEGF ve Anjiyogenez..... 17
1.6.7. Polimorfizm..... 18
1.6.7.1. Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNPler)..... 18
1.7. VEGF Polimorfizmi..... 19
1.7.1. VEGF rs699947" polimorfizmi..... 19
1.8. Hastalıklarda "VEGF rs699947" polimorfizmi..... 20
1.9. SDBH hastalarında "VEGF" polimorfizmi..... 21
2. LİTERATÜR TARAMASI..... 22
3. MATERYAL VE YÖNTEM..... 25
3.1. Çalışma Grupları..... 25
3.2. Ekipman..... 25
3.2.1. Kimyasal Maddeler..... 25
3.2.2. Araçlar ve Cihazlar..... 26
3.3. DNA İzolasyonu..... 26
3.4. KASP Genotipleme Reaksiyonu..... 27
3.5. İstatiksel Analiz..... 31
4. BULGULAR..... 32

5. TARTIŞMA..... 46
6. SONUÇ..... 51
KAYNAKLAR..... 52
ÖZGEÇMİŞ..... 58

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

µl	Mikrolitre
ACPA	Anti-Siklik Sitrülinlenmiş Peptit Antikoru
ODPBH	Otozomal Dominant Polikistik Böbrek Hastalığı
ABH	Akut Böbrek Hasarı
OPD	Otomatik Periton Diyalizi
ABY	Akut Böbrek Yetmezliği
AVF	Arteriovenöz Fistül
AVG	Arteriovenöz Greft
MK	Meme Kanseri
BKİ	Beden Kitle İndeksi
BUN	Kan Üre Azotu
SAPD	Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi
SDPD	Sürekli Döngüsel Periton Diyalizi
CI	Kimyasal İyonizasyon
KBH	Kronik Böbrek Hastalığı
SVK	Santral Venöz Kateter
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DR	Diyabetik Retinopati
ECF	Ekstraselüler Sıvı
EI	Elektron İmpakt
SDBH	"Son Dönem Böbrek Hastalığı"
FRET	Floresan Rezonans Enerji Transferi
GFR	Glomerüler Filtrasyon Hızı
HD	Hemodiyaliz
HWD	Hardy-Weinberg Dengesi
Ig	Immunoglobulin Benzeri
APD	Aralıklı Periton Diyalizi
KASP	Kompetitif Alel Spesifik PZR
Kda	Kilo Dalton
KDOQI™	Böbrek Hastalığı Sonucu Kalite İnisiyatifi
m^2	Metre Kare
MALDI	Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon
Dak	Dakika
Ml	Mililitre
Mrna	Mesajcı Ribonükleik Asit
MS	Kütle Spektrometresi
GAPD	Gece Aralıklı Periton Diyalizi
UBV	Ulusal Böbrek Vakfı
Nrp	Nöropil
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PD	Periton Diyaliz
P1GF	Plasental Büyüme Faktörü
RA	Romatoid Artrit
RFLP	Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi

RPM	Dakikada Devir Sayısı
SS	Standart Sapma
SNPler	Tek Nükleotid Polimorfizmi
svVEGF	Yılan Zehri Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
TK	Tirozin Kinaz
TPD	Tidal Periton Diyalizi
DY	Damar Yolu
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VEGFR	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptörleri

ŞEKILLER DİZİNİ

		Sayfa
Şekil 1.1.	KBH'nin gelişimi ve ilerlemesi.....	5
Şekil 1.2.	Damar yolu çeşitleri: a) Arteriovenöz fistül b) Arteriovenöz greft ve c) Santral venöz kateter.....	9
Şekil 1.3.	VEGF familyası ve reseptörleri.....	13
Şekil 3.1.	KASP tekniği için assay bileşenleri.....	29
Şekil 3.2.	PCR 1. aşama.....	29
Şekil 3.3.	PCR 2. aşama.....	29
Şekil 3.4.	PCR 3. aşama.....	30
Şekil 4.1.	rs699947 nin CC genotipi sergileyen ES1 nolu hastaya ait kırmızı veri noktasının gösterimi.....	34
Şekil 4.2.	rs699947 nin AA genotipi sergileyen ES9 nolu hastaya ait mavi veri noktasının gösterimi.....	35
Şekil 4.3.	rs699947 nin CA genotipi sergileyen ES17 nolu hastaya ait yeşil veri noktasının gösterimi.....	36

TABLOLAR DİZİNİ

		Sayfa
Tablo.3.1.	KASP genotipleme reaksiyonları için reaktif hacimleri…..……..	30
Tablo.3.2.	KASP genotipleme reaksiyonlarının termal döngü koşulları…..…..	31
Tablo.4.1.	SDBH hastalarının ve kontrol grubunun demografik ve klinik özellikleri……..…….	32
Tablo.4.2.	rs699947 genotip dağılımları……...……..	37
Tablo.4.3.	SDBH grubunda klinik özelliklerin frekansının değerlendirilmesi..	38
Tablo.4.4.	SDBH grubunda aile öyküsünün, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi…….……..	40
Tablo.4.5.	SDBH grubunda aile öyküsünün, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi…….……..	41
Tablo.4.6.	SDBH grubunda hipertansiyonun, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi…….……..	41
Tablo.4.7.	SDBH grubunda kistik böbreğin, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi.....	43
Tablo.4.8.	SDBH" grubunda böbrek taşının, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi.....	44
Tablo.4.9.	SDBH grubunda vaskülitin, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi.....	45

GRAFİKLAR DİZİNİ

Sayfa

Grafik 4.1. SDBH hasta ve kontrol grupları arasındaki ortalama yaş değerleri..... 33
Grafik 4.2. SDBH hasta ve kontrol grupları arasındaki ortalama serum kreatinin değerleri 33
Grafik 4.3. "rs699947" genotip dağılımları (%)..... 37
Grafik 4.4. SDBH grubunda klinik özelliklerin frekansının değerlendirilmesi..... 39
Grafik 4.5. SDBH grubunda aile öyküsünün, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi..... 40
Grafik 4.6. SDBH grubunda glomerülonefritin, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi..... 41
Grafik 4.7. SDBH grubunda hipertansiyonun, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi..... 42
Grafik 4.8. SDBH grubunda kistik böbreğin, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi..... 43
Grafik 4.9. SDBH" grubunda böbrek taşının, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi. 44
Grafik 4.10. SDBH" grubunda vaskülitin, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi..... 45

1. GİRİŞ

1.1. Böbrek Fonksiyonu

Böbrekler, karın arkasında, alt kaburga kemiği seviyesinde, omurganın her iki tarafında birer tane olacak şekilde konumlanan önemli organlardır. Böbreğin fonksiyon gösteren temel birimi nefron olarak adlandırılır. Böbrekler, her biri idrar oluşturabilen, toplam 2 milyondan fazla nefrondan oluşur. Nefronun işlevi, kanı istenmeyen maddelerden temizlemektir. Nefron, kanın süzüldüğü glomerüllerden ve süzülen sıvıyı alıp işleyen tübüllerden oluşur. Böbrek fonksiyonu, glomerüler filtrasyon hızı (GFR) kullanılarak hesaplanır (Zhang, Rusinek, Chandarana, & Lee, 2013). Böbrekler, ekstraselüler sıvının (ECF) kompozisyonunu ve hacmini düzenlemekte, baskın bir rol oynar. Genel olarak, idrarda bulunan birçok maddeyi uygun miktarlarda atarak, kararlı iç ortamı sürdürürler. Bu maddeler, sadece artık ürünleri ve yabancı bileşikler değil, aynı zamanda yeme, içme veya metabolizma nedeniyle, bol miktarda oluşan, birçok faydalı maddeyi de içerir.

Böbrekler çeşitli önemli fonksiyonları yerine getirirler:

1. Seyreltik veya derişik idrarı, ozmos yoluyla atarak vücut sıvılarının ozmotik basıncını (ozmolarite) düzenlerler.
2. Sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, klorür, fosfatlar ve sülfatlar da dahil olmak üzere kan plazmasındaki çok sayıda iyonun konsantrasyonunu düzenlerler.
3. Sodyum ve su atılımını kontrol ederek ECF hacmini düzenlerler.
4. Sodyum atılımını ayarlayarak ve kan basıncını etkileyebilecek çeşitli maddeleri (ör. renin) üreterek, arteriyel kan basıncını düzenlemeye yardımcı olurlar.
5. Eritropoietin ve 1,25-dihidroksi vitamin D3'ü de içeren, belirli hormonların üretildiği başlıca bölgelerdir.
6. İnsülin, glukagon ve paratiroid hormonu da dahil olmak üzere birçok polipeptit hormonu indirgerler (Tanner, 2009).

1.2. Böbrek Yetmezliği

Böbrek yetmezliği, böbreğin atıkları, kandan süzme yeteneğini kaybettiği tıbbi bir durumdur. Böbrek yetmezliği iki ana tipten oluşur: "akut böbrek hasarı" "ABH" ve "Kronik Böbrek Hastalığı" "KBH". Böbrek yetmezliği genellikle, kanda kreatinin seviyesi ve kan üre azotu (BUN) seviyesi tarafından, belirli düzeyde tutulan, Glomerüler Filtrasyon Hızında (GFR) bir düşüşe neden olur. GFR, böbrek fonksiyon seviyesini ölçmek ve böbrek hastalığının evresini belirlemek için en iyi testtir ve kan kreatinin testi sonuçları, yaş, vücut büyüklüğü ve cinsiyet parametreleri kullanılarak hesaplanabilir. Böbrek yetmezliği olan hastalarda sıklıkla sıvı ve elektrolit düzensizlikleri, anemi, dengesiz beslenme, kemik hastalığı ve gastrointestinal problemlerle ilgili bulgu ve semptomlar bulunur (Bassiouny, Khalil, Abed-Elmageed, & El-Halfawy, 2015).

"ABH" veya akut böbrek yetmezliği "ABY" ile "KBH" arasındaki ayrım şöyledir:

"ABH", böbreklerin fonksiyonunun saat/gün geçtikçe, hızla etkilenmesi anlamına gelir. Örneğin, bir bireyin kanında böbreklerini etkileyebilecek düzeyde ciddi bir enfeksiyon varsa, böbrekler "ABH'ye" maruz kalabilir. Bu durum genellikle, böbrek fonksiyonlarındaki gerilemenin aylar ya da yıllar içinde çok kademeli olduğu "KBH'nin" tersidir (Schrier, Wang, Poole, & Mitra, 2004).

1.3. Akut Böbrek Yetmezliği

"ABY" veya "ABH", atıkları uzaklaştıran, idrarı derişik hale getiren, elektrolitleri muhafaza eden ve sıvı dengesini koruyan böbreklerin, esneklik kaybı ile karakterizedir (Schrier ve ark. 2004). En yaygın nedenler; enfeksiyon, hacim kaybı, hemodinamik dengesizlik, nefrotoksik hasar ve nitrojenli atık atılımının, sıvı dengesinin, elektrolit regülasyonunun ve asit-baz homeostazisinin eş zamanlı olarak bozulmasıdır (Varrier, Fisher, & Ostermann). "ABY", serum kreatinin seviyesinde artışa, idrar çıkışında azalmaya, diyaliz tedavisinin gerekliliğine veya bu faktörlerin herhangi bir kombinasyonuna bağlı olarak böbrek performansındaki ani bir (kırk sekiz saat içinde) azalma olarak tanımlanabilir. "Akut böbrek hasarı" teriminin, daha önce aynı klinik durumu tanımlamak için kullanılan "akut böbrek yetmezliği" ve akut

renal yetmezlik gibi terimlerin yerine geçmesi önerilmiştir (Mahboob Rahman, Shad, & Smıth,2012).

1.3.1. Kronik Böbrek Hastaliği (KBH)

"KBH", böbreklerin fonksiyonunu etkileyen ve zamanla böbrek yetmezliğine ilerleyebilen bir durumdur. "KBH" son zamanlarda bir halk sağlığı problemi olarak kabul edilmiştir (Stevens, Coresh, Greene, & Levey, 2006). "KBH", "Son Dönem Böbrek Hastalığına" (SDBH) dönüşme riski yüksek, artan sayıda hasta için dünya çapında halk sağlığı problemi olarak ortaya çıkmıştır (Hwang, Tsaı, & Chen, 2010). "CKD", doğrudan ya da dolaylı olarak, morbidite ve mortaliteyle bağlantılı olan bir dizi biyokimyasal, klinik ve metabolik bozukluklarla sonuçlanan ilerleyici ve geri dönüşümsüz bir durumdur. Hastaların günlük hayatlarında ani değişikliklere neden olur, günlük hayat aktivitelerinin gerçekleştirilmesinde kısıtlamalar oluşturur ve hastaların duygu ve yaşam kaliteleri üzerinde büyük etkisi vardır (Oliveira ve ark. 2016).

1.3.2. KBH'de GFR Ölçümü

Glomerüler filtrasyon hızı (GFR) ölçümü, böbrek fonksiyonunun, en iyi genel ölçüm yöntemidir. GFR doğumda, nispeten daha düşüktür. Ancak, bebeklik dönemi ve erken çocukluk döneminde artarak, 2 yaştan itibaren, yaklaşık 120 mL/dak/1.73 m^2 olan yetişkinlikteki düzeylerine ulaşacaktır (Stevens ve ark. 2006). GFR, insülin gibi ekzojen bir ideal filtrasyon markırının üriner klirensiyle en doğru şekilde ölçülürken, GFR'yi hesaplamak için kreatinin veya sistatin C gibi bir endojen biyomarkırın tek bir serum ölçümünü uygulamak, klinik olarak daha çok kullanılmaktadır. Kararlı durumda, kreatinin/sistatin C ile GFR arasında, GFR'nin basit denklemler kullanılarak hesaplanmasını sağlayan ters bir ilişki vardır. Kreatinin/sistatin C ve GFR arasındaki doğrusal olmayan ilişkiden dolayı, bu markırlardaki nispeten küçük olan inisyal artış, GFR'de anlamlı düşüşleri gösterir. Sistatin C, tüm çekirdekli hücreler tarafından yapılırken; kreatinin, kas metabolizmasının atık bir ürünüdür ve bu nedenle diyet ve kas kitlesinden etkilenir. Azalan GFR, "Kronik Böbrek Hastalığı" "KBH'nin" tanı ve evrelendirilmesinde kullanılır. "KBH'nin" tanısı 3 aydan uzun sürelerde GFR<60 mL/dak/1.73 m^2 değerini gerektirir; böbrek hasarına

ilişkin kanıt (albuminüri veya anormal görüntüleme gibi) mevcutsa, yüksek GFR, "KBH'yi" de temsil eder. Kreatinin hızla değiştiğinde, kinetik GFR'yi hesaplamak mümkündür, ancak hacim ve kan basıncı ve toksik atık ürünlerin eliminasyonu için daha karmaşık hesaplamalar gereklidir (Pasala & Carmody, 2016).

1.3.2.1. KBH'nın Sınıflandırılması/Evrelendirilmesi

"KBH", böbrek hasarının varlığı olarak tanımlanır ve yaklaşık üç ay boyunca ölçülen veya tahmin edilen, GFR ile belirlenen, anormal albumin atılımı veya böbrek fonksiyonlarında azalma ile ortaya çıkar. Kreatinin klirensleri, toplanan idrardan her 24 saatte bir ölçülen idrar kreatinin konsantrasyonu ve beraberindeki serum kreatinin konsantrasyonuyla hesaplanabilir. Daha pratik bir yaklaşım, serum kreatinin konsantrasyonundan GFR'yi (tahmini GFR veya eGFR) tahmin etmektir; böbrek replasman tedavisi gerektiren "Son Dönem Böbrek Hastalığının", şiddetli "KBH'si" olan hastalarda görülmesi daha olasıdır. Erken müdahale, ciddi "KBH" sekellerini ve "KBH" ilerlemesini daha yaygın olarak azaltacaktır. Ulusal Böbrek Vakfı, "KBH" şiddetinin belirlenmesini kolaylaştırmak amacıyla Böbrek Hastalığı Sonuçları Kalite Girişimi'nin (NKF KDOQI™) bir parçası olarak "KBH" hastalarını sınıflandıran aşağıdaki kriterleri geliştirmiştir:

1. Evre: Her 1.73 m^2'de normal eGFR ≥ 90 mL/dak ve persistant albuminuri
2. Evre: Her 1.73 m^2'de eGFR 60 ile 89 mL/dak arasında
3. Evre: Her 1.73 m^2'de eGFR 30 ile 59 mL/dak arasında
4. Evre: Her 1.73 m^2'de eGFR 15 ile 29 mL/dak arasında
5. Evre: Her 1.73 m^2'de eGFR 15 mL/dak'dan küçük veya "Son Dönem Böbrek Hastalığı" (Thomas, Kanso, & Sedor, 2008).

1.3.2.2. KBH Için Risk Faktörleri

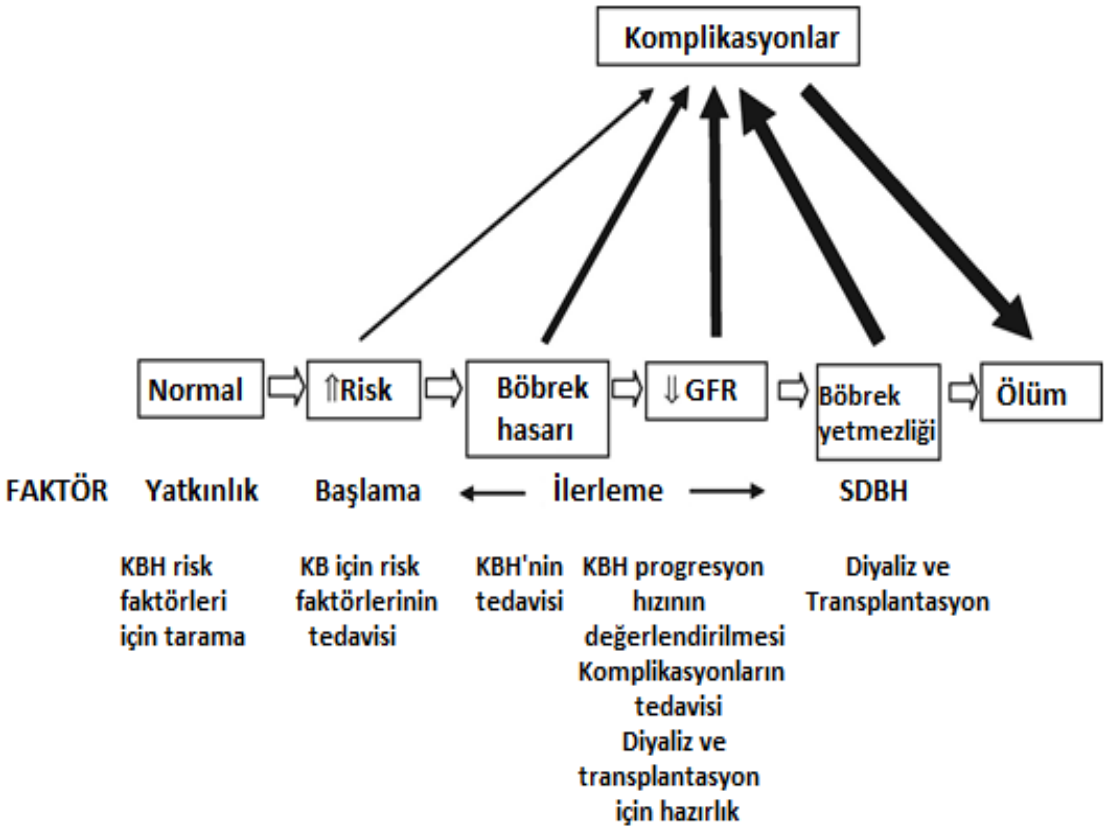
"KBH" ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Son zamanlarda, dünya genelinde, renal replasman tedavisi gören 1,4 milyondan fazla, hasta bulunmaktadır. "KBH", "SDBH'ye" ve kardiyovasküler morbidite ve mortalite artışına yol açabilen bir sağlık problemidir (Kazancioğlu, 2013). "KBH" ile ilişkili, karakteristik veya karakteristik olmayan risk faktörleri, yaş, cinsiyet, ırk ve aile öyküsü, uyuşturucu

kullanımı, sigara kullanımı, sosyo-ekonomik durum ve hipertansiyon, diyabet gibi eşzamanlı hastalıklar bulunmaktadır (Sarnak ve ark. 2003).

1.3.2.3. KBH'nin Komplikasyonları

"KBH" komplikasyonlarının prevalansı, hastalığın ilerleyen evrelerinde artar. III. Amerikan Ulusal Sağlık, Beslenme İnceleme Taraması (National Health and Nutrition Examination Survey III) veri tabanına göre, 1. evre "KBH'si" olan bir hasta için, komplikasyon prevalansı 0.28'dir ve 4. evrede prevalans ortalama 1.71'e yükselmektedir (Murphree & Thelen, 2010).

"KBH" iki nedenden ötürü tehlikeli bir klinik durumdur: Birincisi, böbrek yetmezliği, "SDBH", diğer bir deyişle, diyaliz ve transplantasyon gerektiren hastalık evresi gelişiminin bir başlangıcı olabilir. İkincisi, kardiyovasküler komplikasyon riskini artırır (Şekil 1-1).



Şekil 1.1. KBH'nin gelişimi ve ilerlemesi, (Zoccali, Kramer, J, & Jager, 2009).

1.4. Son Dönem Böbrek Hastaliği “SDBH”

“SDBH”, vücudun metabolik, sıvı ve elektrolit dengesini koruyabilme özelliğinde başarısızlığa ve üremi veya azotemiye (üre ve çeşitli azotlu atıkların kanda tutulması) yol açan, nefritik fonksiyonda geri döndürülemez bir bozulmadır. “SDBH”, şeker hastalığı ve kardiyovasküler hastalık gibi sistemik hastalıklardan da kaynaklanır (Brunner, Smeltzer, Bare, Hinkle & Cheever, 2010). “SDBH” insidansı ve prevalansındaki bariz artış sebebiyle, dünya çapında çok önemli bir halk sağlığı sorunu olarak ortaya çıkmıştır. Bu durum, mali ve sosyal desteği ve tıbbi bakımı da içeren çok disiplinli yönetimin gerekliliğini artıracaktır. “KBH'si” olan hastaların uzman nefroloji servislerine erken sevki, “KBH'nin” değiştirilebilir risk faktörlerinin önlenip, yönetilerek ve ikincil komplikasyonları tedavi ederek, böbrek işlevinin korunmasına ve böbrek yetmezliğinin geciktirilmesine yardımcı olur (Hassanien, Majeed, Watt, & Basri, 2013). “SDBH'si” olan hastaların genel popülasyona kıyasla çok yüksek mortalite riski vardır. Kardiyovasküler hastalık, bu hastalarda toplam mortalitenin %40-50'sini oluşturan, başlıca ölüm sebebi olabilir (Rothuizen ve ark. 2015). Yapılan çalışmalarda, hafif-orta şiddette “KBH” durumunda, tüm nedenlere bağlı veya kardiyovasküler mortalitede çok az anlamlı artış bulunmuş veya hiç artış bulunmamıştır (Tonelli ve ark. 2006). Böbrek transplantasyonu “SDBH” için etkili bir tedavi olsa da, diyaliz halen bu tür hastalar için en tipik tedavidir (Maisonneuve ve ark. 1999).

1.5. Diyaliz

Diyaliz, çözeltideki moleküllerin yarı geçirgen bir zardan elektrokimyasal konsantrasyon gradienti yönünde difüzyonu olarak tanımlanır. Diyalizin en yaygın kullanımı, böbrek fonksiyonları yerine getirilemeyen hastalar için kullanarak, bu hastaların yaşam süresini uzatmak amacıyladır. Bu durum, üre gibi çözünen maddelerin kandan diyalizata ve bikarbonat gibi çözünen maddelerin diyalizattan kana taşınmasıyla sağlanır (Himmelfarb & Ikizler, 2010). Diyaliz, son dönem böbrek hastalığı olan hastalar için, böbreklerin kan filtrasyonunu ve sıvı uzaklaştırma rolünü değiştiren veya tamamlayan, içten veya dışarıdan bir böbrek dışı yarı geçirgen membran filtresi kullanan, bir renal replasman tedavisi türüdür (Al-Jaishi, 2013).

1.5.1. Diyalizdeki Hastalarda Mortalite

Diyaliz tedavisi gören hastalardaki yıllık ortalama mortalite değeri, yaklaşık %25'tir. Ölümlerin temel nedeni kardiyovasküler hastalıklar ve enfeksiyonlardır (sırasıyla, % 50'si ve % 15'i) ve "Son Dönem Böbrek Hastalığı" başlı başına artan morbidite ve mortalite ile bağlantılıdır (Pastan & Bailey, 1998). "Hemodiyaliz", "HD", ve periton diyaliz (PD), "SDBH" için diyaliz tedavisinin iki yaygın şeklidir. Bu iki yöntemle tedavi edilen "SDBH" hastalarının mortalitesi, çok sayıda gözlemsel çalışma ile araştırılmıştır. Ancak "SDBH'si" olan hastaların yaşam süresinin uzatılmasında, hangi diyaliz modalitesinin daha iyi performans gösterdiği henüz açık değildir (F. Yang ve ark. 2015).

1.5.2. Hemodiyaliz (HD)

"HD'nin" birincil amacı, normal böbrek fonksiyonu özellikleri göstermeyen hücrelerin içindeki ve dışındaki sıvı ortamını düzeltmektir. Bu olay, üre gibi çözünen maddelerin kandan diyalizata ve bikarbonat gibi çözünen maddelerin diyalizattan kana taşınmasıyla gerçekleşir (Himmelfarb & Ikizler, 2010). "HD" tedavisi, normal sağlıklı böbreklerin temizleme fonksiyonunun yerini alır. Kan vücuttan çıkarılır ve bir diyaliz makinesinde, süzdürücü olarak adlandırılan özel bir filtreden geçirilir. Süzdürücü, kandaki atık ürünleri temizler, fazla sıvıyı giderir ve temiz kanı vücuda geri gönderilir (Trust, 2016).

1.5.2.1. Hemodiyalizde Damar Yolu Çeşitleri

1.5.2.1.1. Arteriovenöz fistül (AVF)

Arteriovenöz fistüller (AVF) cerrahi olarak, genelde hastanın baskın olmayan ön kolu veya üst kolunda, bir arteri doğrudan bir vene bağlayarak oluşturulur (Şekil 1-2a). Bu anastomoz, arterden direkt olarak vene daha yüksek kan akımı sağlar. Sonuç olarak damar, "HD" tedavisi için tekrarlanan iğne kanülasyonlarına olanak sağlayarak, zamanla şişer ve olgunlaşır. Bir fistülün oluşturulması için bir planlama gereklidir, çünkü olgunlaşması ve "HD" için kullanılabilmesi altı ay kadar sürebilmektedir (Al-Jaishi, 2013). Cimino ve Brescia 1962'de, "HD'nin" en

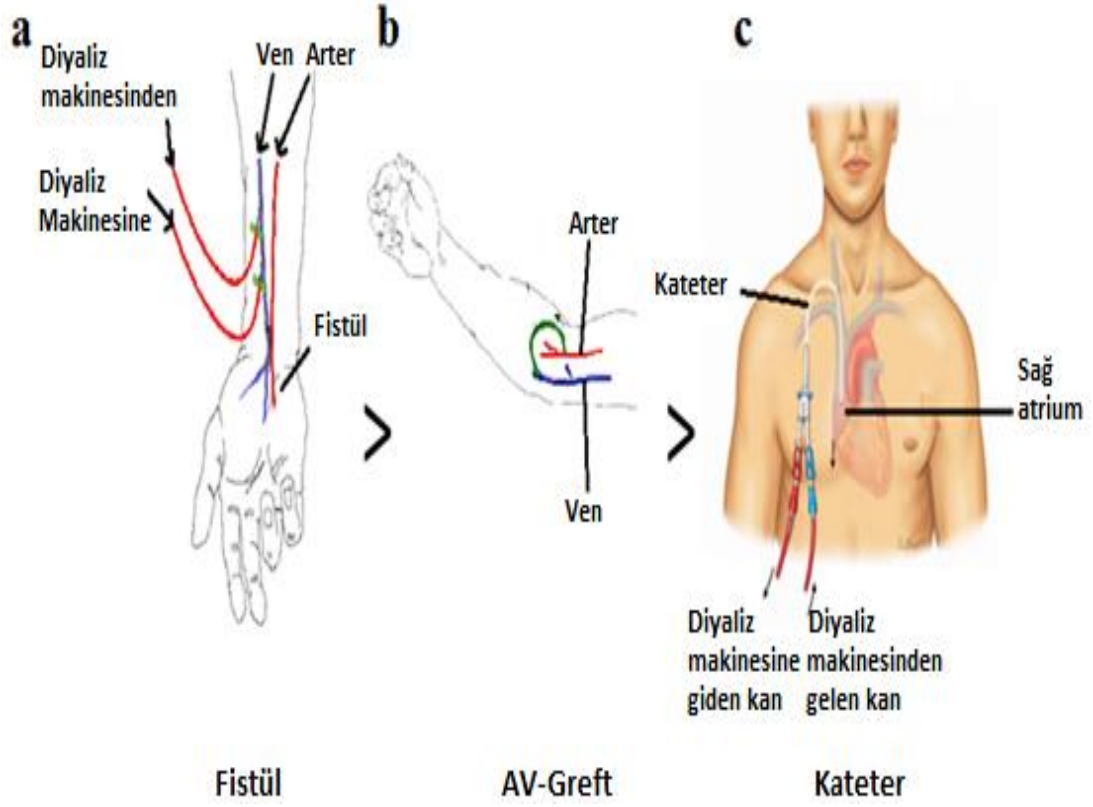
erişilebilir önkol damarının basit bir ponksiyonu ile yapıldığı bir teknik açıklamıştır. Damarın açıklığı, inflatabl bir turnike kullanılarak sağlanmıştır. Bu teknik, çeşitli boyutlardaki iğnelerin 150-400 mL/dak'lık "HD" akışı ile kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Thomson, 2010).

1.5.2.1.2. Arteriovenöz greft (AVG)

Yapay arteriovenöz greft (AVG), AVF'ye bir alternatiftir. Arteriyel ve venöz kanülleri bağlamak için, bir parça esnek tübaj kullanılan Scribner şantı uygulamasını takiben geliştirilmiştir (Thomson, 2010). AVG'ler, cerrahi olarak arteriyel ve venöz dolaşımları bağlamak için yapay bir tüp kullanılarak oluşturulur (Şekil 1-2b). AVG, "Hemodiyaliz"de kanülasyon ve kana ulaşım için kullanılabilen yapay bir damar haline gelir. Fistülün aksine AVG'nin olgunlaşması gerekmez. (Al-Jaishi, 2013).

1.5.2.1.3. Santral venöz kateterler (SVKler)

SVKler, renal replasman tedavisi başlangıcında, "HD'ye" acil ihtiyaç duyulduğunda, ya da daimi damar yolunun işlevsiz hale geldiği durumlarda, iyi bir alternatiftir. SVKler, vücudun farklı bölgelerine yerleştirilebilir ve olgunlaşma süresine ihtiyaç duymadan anında "HD'ye" olanak tanırlar (Santoro ve ark. 2014). Kateterler, hastanın internal juguler veya subklavyan veni içine yerleştirilir. En yaygın yerleştirme bölgesi boyundaki internal juguler vendir (Şekil 1-2c). Kateterler, yerleştirildikleri gün, "HD" için hemen kullanım sağlayabilirler. Arteriovenöz giriş (fistül veya AV-greft) oluşturulması uygun olan "HD" hastalarında kateter kullanabilir (Al-Jaishi, 2013).



Şekil 1.2. Damar yolu çeşitleri: a) Arteriovenöz fistül b) Arteriovenöz greft ve c) Santral venöz kateter (Al-Jaishi, 2013).

1.5.2.2. HD'nin Komplikasyonlari

"HD", "SDBH'si" olan hastalar için zaman içinde, güvenli ve iyi tolere edilen bir terapi haline gelmiştir. Buna rağmen, diyaliz hastalarının ortalama ömür uzunluğu, benzer demografik özelliklere sahip genel popülasyona kıyasla, oldukça kısadır. Damar yolu komplikasyonları, kronik "HD" popülasyonda, bir problemdir. Ulusal Böbrek Vakfı, Diyaliz Sonuçları Kalite Girişiminin (National Kidney Foundation's Dialysis Outcomes Quality Initiative) (KDOQI), Damar Yolu için Klinik Uygulama Rehberi (The Clinical Practice Guidelines for Vascular Access), "Hemodiyaliz" için, venöz kateter kullanımından daha yüksek kan akışı sağlaması ve venöz kateterlerin sık görülen komplikasyonları olan enfeksiyon, tromboz, septisemi ve santral venöz darlık ihtimallerine daha düşük oranda neden olması sebebiyle, AV yönteminin (natif fistül veya yapay greftler) kullanılmasını önermektedir. Birçok çalışma, fistüllerin daha az komplikasyona sahip olduğu sonucuna vardığından, KDOQI rehberleri greftlere oranla, fistülleri daha fazla tavsiye etmektedir (Ghonemy, Farag, Soliman, Amin, & Zidan, 2016).

1.5.3. Periton Diyaliz (PD)

Peritoneal diyalizi (PD), renal replasman tedavisinin etkili bir formudur ve 1978'de tanıtılmasından bu yana dünyada yaygın şekilde kullanılmaktadır. “HD'ye” ek olarak “SDBH” için alternatif bir tedavi modalitesi olan PD, kolay teknolojisi ile, evde tedaviyi mümkün kıldığından dolayı dünya genelinde hızlı yaygınlaşmıştır (de Vin, Rutherford, & Faict, 2009). Tipik olarak, bir plastik kateter periton kavitesi içine implante edilir ve subkutanöz dokulara sabitlenir. Tampon olarak fizyolojik miktarlarda sodyum, kalsiyum, magnezyum ve (genelde) laktat içeren diyaliz solüsyonu kateterden karın zarına aşılanır ve birkaç saat yerinde bekletilir. Bu süre zarfında, difüzif madde taşınımı, periton membran üzerinden taze sıvı, eskisiyle yer değiştirene kadar gerçekleşir. %1.5-4.25 konsantrasyonlardan daha fazla glikozun diyalizata eklenmesi, sıvının ultrafiltrasyonuna izin veren bir ozmolar gradient sağlar. Dakikada yaklaşık 1 ml periton sıvısı, diyafragmatik lenf damarları aracılığıyla emilir. “Sürekli ayaktan periton diyalizi” çoğunlukla, günlük 2 litre, 4 sefer diyalizat değişimi kullanır, beklenen drenaj hacmi ultrafiltrasyonla birlikte yaklaşık 10 litredir ve hastaların yüzde 60'ı, bu protokole göre tedavi edilmektedir (Pastan & Bailey, 1998).

1.5.3.1. Periton Diyaliz Çeşitleri

1.5.3.1.1. Sürekli ayaktan periton diyalizi “SAPD”

“Sürekli ayaktan periton diyalizi”, “SAPD”, artan sayıdaki hastalarda son dönem böbrek yetmezliğini tedavi etmek için kullanılır. “SAPD” tekniği ilk olarak 30 yılı aşkın bir süre önce tanımlanmıştır. Diyalizat, “SAPD'de” pelvise yerleştirilen kalıcı kateter vasıtasıyla peritona akıtılır ve doğal bir yarı geçirgen membran olan periton membranı, süzdürücü olarak görev görür (Giannattasio, Buemi, Caputo, Viglino, & Verrina, 2003). Tıbbi hususlar, bazı hastalar için “SAPD” veya “HD” seçimini zorunlu kılabilse de, çoğu böbrek yetmezliği vakaları her iki yöntemle de tedavi edilebilir. Seçim, sağlık çalışanları ile yapılan görüşmeler sonrasında hasta tarafından yapılır ve kişisel, sosyal ve ekonomik faktörlerin yanı sıra tıbbi duruma bağlıdır. Birçok hasta diyaliz sırasında günlük aktivitelerini gerçekleştirebildikleri için “SAPD'yi” tercih eder; “SAPD”, “HD'den” daha fazla bağımsızlık ve hareket

kabiliyeti sağlar. “SAPD”, “Hemodiyalizden” daha düşük maliyetlidir ve evde uygulanabilir. Ancak “SAPD'nin” dezavantajları da vardır: diyalizat yoluyla protein kaybı hipoproteinemiye neden olabilir ve diyalizattan glikozun absorbsiyonu aşırı kilo alımına, hiperlipidemiye ve bakteriyel peritonit, tüberküloz peritonit ve kateter çıkış yeri ve tünel enfeksiyonlarını içeren enfeksiyöz temelli hızlandırılmış ateroskleroz komplikasyonlarına neden olabilir. Enfeksiyöz olmayan komplikasyonlar kateter disfonksiyonu, diyalizat sızıntısı, fıtık ve sklerozan kapsülleyici peritoniti içerir (Stuart ve ark. 2009).

1.5.3.1.2. Otomatik periton diyalizi (OPD)

Otomatik periton diyalizi (OPD), diyalizatın verilmesini ve boşaltılmasını sağlayan mekanik bir cihaz kullanan her türlü PD'ye istinaden kullanılan kapsamlı bir terimdir. OPD'nin çeşitli formları, sürekli döngüsel PD (SDPD), aralıklı PD (IPD), gece aralıklı PD (GAPD) ve tidal PD’yi (TPD) içermektedir (Rabindranath ve ark. 2007). APD'nin “SAPD'ye” kıyasla, daha düşük peritonit insidansı, küçük çözünen maddelerin daha iyi klirensi ve daha düşük fıtık insidansı gibi çeşitli avantajlara sahip olduğu bildirilmiştir. Özellikle GAPD şeklinde olan OPD'nin, “SAPD'ye” kıyasla, daha az bağlantının olması ve abdomenin gündüz boyunca sıvısız olması gibi bir takım psikososyal ve fiziksel yararlar sağladığı bildirilmiştir. Bu gibi yararlar, diyalizin çalışanlar, okul öğrencileri ya da yaşlı veya zayıflamış hastalar için daha kabul edilebilir olması anlamına gelir, sırt ağrısı ve karın içi basınçta azalma sağlama avantajları da vardır (Dell'Aquila, Berlingò, Pellanda, & Contestabile, 2009).

1.5.3.2. Periton Diyalizinin (PD) Komplikasyonları

Mekanik, tıbbi ve enfeksiyöz problemler PD tedavisini zorlaştırır. Mekanik komplikasyonlar, kateterin kıvrılması sonucu ve içe ve dışa akış obstrüksiyonu, çıkış bölgesindeki fazla miktarda kateter hareketi neticesinde dokuların enfeksiyonu, kateter ucunun iç organa çarpması sonucu oluşan ağrı veya çok hızlı diyalizat akışına bağlı giriş ağrısıdır. Diyalizatta fibrin oluşumu yaygın görülür ve kateter çıkışının engellenmesine neden olabilir. PD'nin enfeksiyöz komplikasyonları, morbidite ve mortalite açısından önemli bir neden olup, tekniğin başarısızlığının ve PD'den “HD'ye” geçişin önde gelen nedenidir. İki predominant enfeksiyöz komplikasyon,

peritonit ve tüm çıkış bölgeleriyle, tünel enfeksiyonlarını içeren katetere bağlı enfeksiyonlardır (Foote & Manley, 2008).

1.6. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

1.6.1. VEGF Biyolojisi

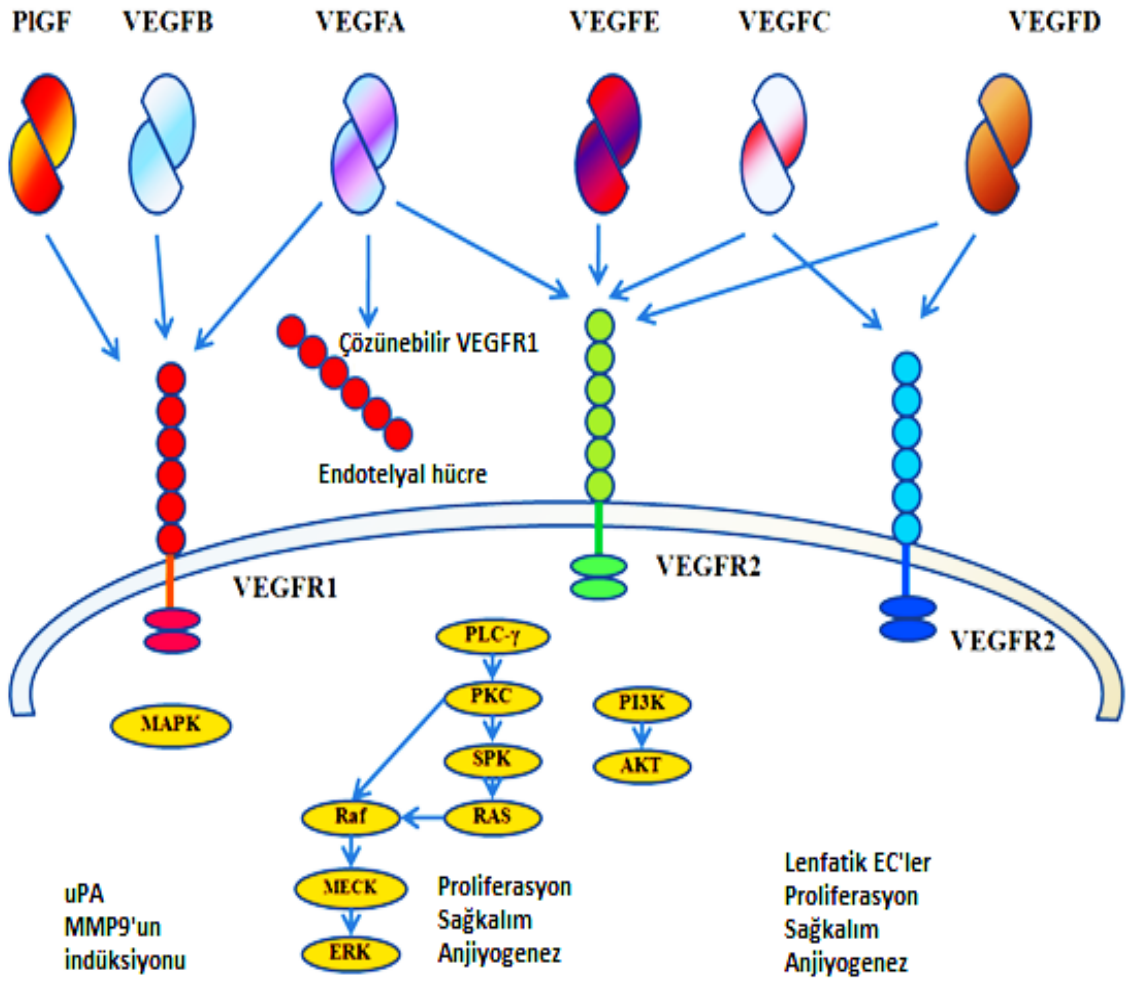
"VEGF" güçlü bir anjiyojenik ve vasküler geçirgenlik faktörüdür. "VEGF" geni 6p21.3 bölgesinde lokalizedir ve 8 ekzondan oluşur. İnsan "VEGF" pre-mRNA'sı, 121, 145, 165, 189 ve 206 amino asitten oluşan beş polipeptit izoformu oluşturmak için, alternatif splicing işleminden geçerken; alternatif bir başlangıç kodonundan translasyon ile 395 aminoasitten daha büyük bir izoformu (L-VEGF) oluşturabilir. "VEGF" üreten hücreler, makrofajlar, keratinositler ve T hücreleri ile birlikte, pankreatik islet, düz kas, mezangial, böbrek ve çeşitli tümör hücrelerini içerir (Freathy ve ark. 2006). "VEGF'nin" endotel hücre proliferasyonu, sağkalım ve yer değiştirme üzerindeki etkileri de dahil olmak üzere, çeşitli mekanizmalar yoluyla anjiyogenezde merkezi bir rol oynadığı düşünülmektedir (Jacobs ve ark. 2006). "VEGF" başlangıçta bir vasküler geçirgenlik unsuru olarak tanımlanmıştır ve daha kapsamlı olarak, anjiyojenik süreçler için gerekli olan, nispeten spesifik bir endotel hücre mitojeni ve kemotaktik faktör olabileceği belirtilmiştir (Rogers & D'Amato, 2012).

1.6.2. VEGF Familyası

"VEGF" familyası ve reseptörleri, anjiyogenezin ve vasküler geçirgenliğin temel düzenleyicileridir. "VEGF" familyası, "VEGF-A", PlGF (plasenta büyüme faktörü), "VEGF-B", "VEGF-C", "VEGF-D", "VEGF-E" ve svVEGF'yi (yılan zehri "VEGF") içermektedir (Takahashi & Shibuya, 2005). "VEGF" familyası, anjiyogenez, lenfanjiyogenez ve vaskülogenezde bütünleyici bir rol oynar. "VEGF" familyası ligandları için, VEGFR1, VEGFR2 ve VEGFR3 olmak üzere, 3 reseptör protein-tirozin kinaz vardır. Bununla birlikte nöropilin-1 (Nrp-1) ve nöropilin-2 de (Nrp-2) bu reseptörler içinde yer alır; bunlar, nöronal gelişim sırasında aksonal yönlendirmeyle ilgili moleküller için olan reseptörler, yani semaforinlerdir. "VEGF" familyası ve reseptörleri Şekil 1-3'te özetlenmiştir (Roskoski, 2007).

1.6.2.1. VEGF-A

"VEGF-A'nın" keşfi, 1980'lerden başlayarak çeşitli gruplar tarafından yapılan çalışmalar sırasında gerçekleşmiştir. "VEGF-A", kromozom 6p21.3'te bulunur (Sa-nguanraksa, 2012). "VEGF-A", 34 ile 42 kDa arasında, dimerik yapıda olan disülfit bağlı bir glikoproteindir. Normal dokularda en yüksek "VEGF-A" mRNA seviyeleri erişkin akciğer, böbrek, kalp ve adrenal bezlerinde bulunur. Daha düşük "VEGF-A" transkript seviyeleri, karaciğer, dalak ve gastrik mukozada görülür. "VEGF-A" en az 7 homodimerik izoformda bulunur. Monomerler 121, 145, 148, 165, 183, 189 veya 206 amino asitten oluşur (Hoeben ve ark. 2004). "VEGF-A", endotel hücrelerde, makrofajlarda, aktif T hücrelerinde ve pek çok farklı hücre türlerinde üretilir. "VEGF-A" önemli bir anti-kanser hedefini temsil etmektedir (Roskoski, 2007).



Şekil 1.3. "VEGF" familyası ve reseptörleri (Sa-nguanraksa, 2012).

1.6.2.2. VEGF-B

“VEGF-B” 1995 yılında keşfedilmiştir. Yetişkin miyokardiyumda, iskelet kasında ve pankreasta çok miktarda eksprese edilir. Fare embriyonal dokularında; gelişmekte olan kalpte, kahverengi yağ dokusunda, kasta (embriyonik arterlerde düz kas katmanı dahil olmak üzere) ve omurilikte yüksek ekspresyon görülür. “VEGF-B” geni 7 ekzondan oluşur. Ekzon 3 ve 4, 2 disülfit köprüsüne sahip bir sistein düğüm motifinden sorumlu olan, değişmez sistein kalıntılarını kodlar. Ekzon 6’nın alternatif splicingi, “VEGF-B” 167 (21 kDa) ve “VEGF-B” 186 (32 kDa) olmak üzere “VEGF-B'nin” 2 izoformunu oluşturur (Hoeben ve ark. 2004). “VEGF-B'nin” fonksiyonu net olmamakla birlikte, yetişkinlerde normal kalp fonksiyonu için gereklidir ancak kardiyovasküler gelişim veya anjiyogenez için gerekli değildir. İnsan tümörlerindeki ekspresyonu ve VEGFR1 ve nöropilin-1'i aktive etme kabiliyeti, “VEGF-B'nin” potansiyel bir anti-kanser hedefi olduğunu göstermektedir (Roskoski, 2007).

1.6.2.3. VEGF-C

Yetişkin dokularda, “VEGF-C” en belirgin biçimde kalpte, plasentada, ovaryumda, ince bağırsakta ve tiroit bezinde eksprese edilirken; embriyonal dokuda ekspresyon, lenfatik damarların perimetanefrik, aksiller ve jugular bölgelerinde gerçekleşir. “VEGF-C” geni, 40 kb DNA içerir ve 7 ekzondan oluşur. “VEGF-C'nin” “VEGF” homoloji domaini, ekzon 3 ve 4 tarafından kodlanır, ekzon 5 ve 7 ise sistein açısından zengin motifleri kodlar (Hoeben ve ark. 2004). “VEGF-C” meme, serviks, kolon, akciğer, prostat ve mide tümörleriyle birlikte insan tümörlerinin önemli bir kısmında ifade edilir. Böylece, “VEGF-C”nin potansiyel bir anti-kanser hedefi olabileceği düşünülmektedir (Roskoski, 2007).

1.6.2.4. VEGF-D

“VEGF-D” transkriptleri, yetişkin kolon, kalp, akciğer, iskelet kası ve ince bağırsaklarında yüksek seviyelerde; öte yandan ovaryum, pankreas, prostat, dalak ve testiste düşük seviyelerde bulunur. “VEGF-D”, meme, kolorektal, gastrik ve tiroid karsinomları, servikal intraepitelyal neoplazi, gliyoblastoma ve melanomda up-regüle

edilir (Roskoski, 2007). İnsan “VEGF-D” geni, Xp22.31’de lokalizedir ve 354 amino asitlik bir proteini kodlar (Hoeben ve ark. 2004).

1.6.2.5. VEGF-E

İnsan dışı bir faktör olan "VEGF-E", Orf parapoxvirüsü tarafından kodlanır. "VEGF-E", kimyasal yönelmeyi, proliferasyonu ve kültürü yapılmış vasküler endotel hücrelerinin türemesini ve in vivo anjiyogenezi stimüle eder. "VEGF-E", VEGFR2'ye yüksek afinite ile bağlanır, ancak VEGFR1'e bağlanamaz. Bu faktör, parapoxvirüs ile enfekte olmuş lezyonlarla ilişkili anjiyogenezi destekler. "VEGF-E'nin" vasküler geçirgenlik aktivitesi "VEGF'nin" aktivitesine benzerdir (Roskoski, 2007).

1.6.2.6. Plasental Büyüme Faktörü (P1GF)

P1GF, "VEGF" ile %42 amino asit sekansı benzerliği olan homodimerik bir glikoproteindir (Roskoski, 2007). P1GF, ilk olarak insan plasentasında 1991 yılında keşfedilmiştir. P1GF geni plasentada, insan gebeliğinin her aşamasında yüksek oranda eksprese edilir (Takahashi & Shibuya, 2005). P1GF insanda dört izoform halinde bulunur, ancak farelerde sadece bir tane (P1GF-2) bulunur. P1GF plasentada fazla miktarda; kalpte, akciğerlerde ve iskelet kaslarında ise daha düşük seviyelerde eksprese edilir. P1GF birçok açıdan "VEGF-B" ye çok benzer fakat; anjiyogenez ve arteriyogenez üzerindeki etkileri önemli ölçüde farklı görünmektedir. P1GF, "VEGF'ye" benzer bir verimlilikte, iskemik kalp ve ekstremitelerdeki anjiyogenez ve kolateral damar büyümesini uyarabilmektedir. Aynı zamanda, damar geçirgenliğini ve inflamasyonu arttıcı etkisi bulunmaktadır (Bry, Kivelä, Leppänen, & Alitalo, 2014).

1.6.3. VEGF Reseptörleri

1.6.3.1. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptörü 1 (VEGFR-1) (Flt-1)

VEGFR-1 (fms benzeri tirozin kinaz, Flt-1) ekstraselüler ligand bağlama bölgesi, transmembran domaini, intraselüler tirozin kinaz (TK) domaini ve karboksi-terminal

bölgesinden oluşur. Ekstraselüler kısmı, yedi immunoglobulin benzeri (Ig) domainden oluşur. 30 ekzon içeren insan VEGFR-1 geni, 13q12'de lokalizedir. Yaklaşık 210 kDa'luk bir molekül ağırlığına sahip olan VEGFR-1 (Bry ve ark. 2014), "VEGF", "VEGF-B" ve P1GF'ye yüksek afinite ile bağlanır. Tek başına VEGFR-1 endotel hücrelerde (EH'ler) zayıf mitojenik sinyalleri iletir, fakat VEGFR-1 veya VEGFR-2 homodimerlerinden daha güçlü sinyal özellikleri olan bir kompleks oluşturmak üzere, VEGFR-2 ile heterodimerize olabilir. VEGFR-1, EH'lerde olduğu gibi osteoblastlar, monositler/makrofajlar, perisitler, plasental trofoblastlar, renal mezanjiyal hücreler ve bazı hematopoietik kök hücrelerde de eksprese edilir. VEGFR-1 ekspresyonu, anjiyogenez sırasında ve ayrıca VEGFR-2 ve VEGFR-3'ün aksine hipoksi durumunda up-regüle edilir (Tammela, Enholm, Alitalo, & Paavonen, 2005).

1.6.4. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptörü 2 (VEGFR-2) (Flk-1/KDR)

VEGFR-2'nin (kinaz-insert domain reseptörü, KDR/fetal karaciğer kinaz, Flk-1) genel yapısı VEGFR-1'in yapısına benzerdir. VEGFR-2; VEGF'ye "VEGF-C'ye" ve "VEGF-D'ye" bağlanır. "VEGF'nin" VEGFR-2'ye bağlanma afinitesi, VEGFR-1 için olan bağlanma afinitesinden daha düşük olmasına rağmen, VEGFR-1 ve VEGFR-2'nin selektif aktivasyonu, endotel hücrelerinde "VEGF" sinyalleri ileten birincil reseptörün VEGFR-2 olduğunu göstermiştir (Tammela ve ark. 2005). 210 kDa molekül ağırlığına sahip olan VEGFR-2, "VEGF" ile stimüle edilmiş endotel hücre göçünün, proliferasyonunun, sağkalımının ve artmış vasküler geçirgenliğin aracısıdır (Roskoski, 2007). VEGFR-2, vasküler ve lenfatik endotel hücreler, megakaryositler ve hematopoietik kök hücreler gibi, farklı hücre tiplerinde eksprese edilir (Takahashi & Shibuya, 2005).

1.6.5. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptörü 3 (Flt-4)

Beşinci Ig-homoloji domaini, biyosentezden hemen sonra proteolitik olarak kesilip, yeni oluşan polipeptit zincirleri bir disülfit bağı ile bağlı kaldığından, VEGFR-3 (fms benzeri tirozin kinaz 4, Flt4) sadece altı Ig-homoloji domainine sahiptir. VEGFR-3, "VEGF-C" ve "VEGF-D'ye" bağlanır (Tammela ve ark. 2005). Yaklaşık 170 kDa

moleküler ağırlığa sahip VEGFR-3, bu reseptör ailesinin üçüncü üyesidir. VEGFR-3, embriyo içindeki birincil kapiler pleksusun yeniden modellenmesinde önemli bir rol oynamaktadır ve yetişkinlerde anjiyogeneze ve lenfanjiyogeneze katkıda bulunmaktadır. Bu reseptör, embriyonik vasküler endotel hücrelerinde ortaya çıkar, gelişim sırasında üretimi azalır ve sonrasında üretimi lenfatik damarlarla kısıtlanır. VEGFR-3, doğal olarak oluşan mutasyonların bulunduğu tek "VEGF" reseptörüdür (Roskoski, 2007).

1.6.5.1. Nöropilinler

Nöropilinler, hem semafor hem de "VEGF" familyası için transmembran, nonprotein-tirozin kinaz koreseptörlerdir. Semafor familyası, aksonal büyüme konilerini çökertebilen ve nörojenez sırasında gangliyonların aksonlarını itebilen kemoitici, akson yönlendirici moleküller olarak görev yapan glikoproteinlerdir (Roskoski, 2007). Nöropilinler, Nrp-1 ve Nrp-2, immünolojide ve nöronal gelişimde rol oynar, aynı zamanda anjiyogenezde de görev alırlar. Nrp-1, "VEGF", "VEGF-B" ve P1GF'ye bağlanırken; Nrp-2, "VEGF", "VEGF-C" ve P1GF'ye bağlanır. Nrp-1, VEGF-1 ile kompleksler oluşturarak ve in vivo tümör anjiyogenezini arttırarak, VEGF-VEGFR-2 etkileşimlerini güçlendiren koreseptör olarak görev yapar (Tammela ve ark. 2005).

1.6.6. VEGF ve Anjiyogenez

Anjiyogenez, yeni damarların mevcut damarlardan şekillendirilmesidir. Anjiyogenez, çoğu ekstra fonksiyonlara sahip, çok çeşitli endojen moleküller tarafından düzenlenir (Rogers & D'Amato, 2012). Anjiyogenez, proanjiyojenik ve antianjiyojenik faktörleri olan kompleks bir kontrol sistemine bağlıdır. Yetişkinlerde anjiyogenez, bu "anjiyojenik denge", diğer bir deyişle kan damarı gelişimi için uyarıcı ve inhibe edici sinyaller arasındaki fizyolojik dengeyle, sıkı bir şekilde kontrol edilir. Normal koşullarda, yeni kan damarlarının oluşumu; yara iyileşmesi, organ rejenerasyonu, ve kadın üreme sisteminde ovülasyon, menstruasyon ve plasenta oluşumu sırasında meydana gelir. Ayrıca, tümör büyümesi, romatoid artrit, diyabetik retinopati ve sedef hastalığı gibi çeşitli patolojik süreçlerde önemli bir faktördür. Anjiyojenik fenotipe geçiş, anjiyojenik uyarıcılar ve inhibitörler arasındaki dengede bulunan lokal bir

değişime bağlıdır. En gerekli proanjiyojenik faktörlerden biri vasküler endotelyal büyüme faktörüdür (VEGF1). "VEGF", hem anjiyogenez öncesinde hem de anjiyogeneze eşlik edebilen mikro-vasküler aşırı geçirgenliği güçlendirir (Hoeben ve ark. 2004).

1.6.7. Polimorfizm

'Polimorfizm' terimi genetikçiler tarafından yaygın şekilde kullanılır. Teknik olarak, polimorfik lokus, alelleri veya varyantları arasında en yaygın varyanttır ve lokus bialelik ise, nadir alel popülasyonda %1'den büyük bir frekansta ortaya çıkmalıdır. Ancak en nihayetinde modern genetik çalışmalardaki polimorfizm kullanımı, protein izoformları ve kan grubu antijenlerinin sergilediği gibi, fizyolojik ve biyokimyasal varyasyon çalışmalarından dolayı ortaya çıkmıştır. Polimorfizm, değişim sonucu ortaya çıkar. Farklı polimorfizm türleri, genel olarak onları oluşturan değişim türüne göre belirlenir. En basit polimorfizm türü, bir nükleotidin bir diğerinin yerine geçmesiyle oluşan tek bir baz değişiminden kaynaklanmaktadır. Bu tür değişiklikleri barındıran bölgedeki polimorfizm, 'tek nükleotid polimorfizmi', "SNP", olarak adlandırılmıştır (Schork, Fallin, & Lanchbury, 2000).

1.6.7.1. Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNPler)

"SNP", bir genomdaki varyans kaynağıdır. "SNP" (snip), DNA'daki tek bir baz değişikliğidir. "SNPler", insan genomundaki genetik polimorfizmin en basit türü ve en tipik kaynağıdır (tüm insan DNA polimorfizmlerinin % 90'ı). "SNPlerle" sonuçlanan nükleotid baz değişimlerinin iki türü vardır:

- Pürinlerin (A, G) veya pirimidinlerin (C, T) kendi içlerinde yer değiştirmesi. Bu tür değişme bütün "SNP'lerin" üçte ikisini oluşturur.
- Bir pürin ve bir pirimidin arasında yer değiştirme (Smith, 2002).

"SNPlerin" insan genetiği çalışmalarında önemli yansımaları vardır. Birincisi, "SNPlerin" bir kısmı, protein kodlayan sekanslar arasında oluşur. Spesifik bir "SNP" alleli varlığı, insan genetiği bozukluklarının bir nedeni olarak ilişkilendirilir. Bu nedenle, bireyde böyle bir alelin görülmesi, hastalığa genetik bir yatkınlığı tespit

etmeyi mümkün kılabilir. İkincisi, “SNPler”, fonksiyonu bakımından önemli olan genleri belirleyen ve tanımlayan genetik haritalama çalışmalarında genetik işaretleyiciler olarak kullanılabilmektedirler (Griffin & Smith, 2000).

1.7. VEGF Polimorfizmi

İnsan “VEGF” geni, kromozom 6'nın (6p12-p21) kısa kolunda bulunur ve bir protein ailesi oluşturmak için alternatif splicing gerçiren, yedi intronla ayrılmış sekiz ekzondan oluşur (Rezaei, Hashemi, Sanaei, Mashhadi, & Taheri, 2016). “VEGF'nin” normal fonksiyonu, embriyonik gelişim sırasında, yaralanmadan sonra ve bloke olmuş damarları baypas etmek için yeni damarlar (kolateral dolaşım) oluşturmaktır. “VEGF”, vaskülojenez ve anjiyogenezde yer alan önemli bir sinyal proteinidir. Ağırlıklı olarak vasküler endotel hücrelerine karşı mitojenik aktivite gösterir fakat bir takım diğer hücre tiplerinde çeşitli etkilere sebep olabilir (örneğin, monosit/makrofaj göçünün stimulasyonu) (Safránková ve ark. 2011).

Yapılan çalışmalarda, bu genin en az 30 tane tek nükleotid polimorfizmine, “SNP”, sahip olduğu doğrulanmıştır. Bunlar arasında, 2578C>A “rs699947”, –634G>C “rs2010963”, –460C>T “rs833061”, +936C>T “rs3025039” ve -1154 G>A “rs1570360” “SNPlerinin” “VEGF” ekspresyonunu düzenleyen bölgelerde olduğu kanıtlanmıştır (Tu ve ark. 2014).

1.7.1. VEGF rs699947 Polimorfizmi

İnsan “VEGFA” geni oldukça polimorfiktir ve bireyler arasında kayda değer ekspresyon ilişkili varyasyonları bulunmaktadır. Bazı “SNPler”, in vitro “VEGFA” ekspresyon farklılığıyla ilişkilendirilmiştir.

“VEGF rs699947”, “VEGF” geninin promotör bölgesinde bulunan promotör aktivitesini etkileyebilen önemli bir “SNP'dir”. “VEGF rs699947” polimorfizmi için genotipler, A;A, ,A;C, C;C şeklindedir. “VEGF rs699947” polimorfizmi çeşitli hastalıklarla bağlantılı bulunmuştur (Doi, Noiri, Fujita, & Tokunaga, 2006).

1.8. Hastalıklarda VEGF rs699947 Polimorfizmi

Birçok çalışma, “VEGF” geninin “VEGF rs2010963”, “rs833061”, “rs3025039”, “rs1570360” polimorfizmlerini de içeren “SNPleri” ile çeşitli hastalıklar arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Bu bağlamda, "VEGF'nin” en önemli “SNP’lerinden biri”, “rs699947” olarak görünmektedir. Aşağıda bu çalışmalara örnekler verimiştir:

1. Akciğer kanserinde “VEGF rs2010963” ve “VEGF rs699947” polimorfizmleri: “VEGF” geninin promotör bölgesindeki iki önemli “SNP” olan “rs833061” (–460C>T) ve “rs699947”nin (–2578C>A) rollerinin, akciğer kanseri yatkınlığı ve sağkalımda tartışmalı olarak kaldığı, yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu iki “SNP”nin, Asyalılar için akciğer kanseri riskinin olası göstergeleri olabileceği ve akciğer kanseri hastaları için kemoterapi ve radyoterapi planlanırken dikkate alınması gerektiği düşünülmüştür (Tu ve ark. 2014).
2. Diyabetik retinopatide (DR) “VEGF rs833061” ve “rs3025039” polimorfizmleri: Yapılan bir meta-analizde, Asyalılarda ve incelenen diğer popülasyonlarda, resesif bir modelde (OR = 3.19, %95 CI = 1.20–8.41, ve (*z*) = 0.01) VEGF "rs3025039" (+936C/T) polimorfizmi ile DR arasında, yine resesif modelde (OR = 2.12, %95 Cl = 1.12–4.01, ve (*z*) = 0.02) “rs833061” (460T/C) polimorfizmi ile DR riski arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Han ve ark. 2014).

3. Tiroit kanserinde “VEGF rs699947” ve “rs3025039” polimorfizmleri: “VEGF” anjiyogenez için etkili bir uyarıcıdır. “VEGF'nin” iki fonksiyonel tek nükleotid polimorfizminin (rs699947 (2578C/A) ve rs3025039 (936C/T)), “VEGF” ekspresyonu ile ilişkili olduğu bilinmektedir. “SNP” “rs699947”nin A aleli, erkeklerde tiroit kanseri gelişimini ve bölgesel lenf nodülü metastazı riskini artırmıştır. Ancak, diğer “SNP” anlamlı sonuçlar vermemiştir (Hsiao ve ark. 2007).

4. Meme kanserinde (MK) “VEGF rs699947”, “rs3025039”, “rs2010963” ve “rs833061” polimorfizmleri: İranlı bir popülasyonda yapılan çalışmada, “rs699947” (-2578 C>A), “VEGF rs3025039” (+936 C>T), “rs2010963” (+405 C>G) ve “rs833061” (-460 T>C) polimorfizmlerinin, MK riski üzerindeki etkisi

değerlendirilmiş; “VEGF rs3025039”, “rs2010963” ve “rs833061” varyantları MK riski/korumasıyla bağlantılı bulunmazken, “rs699947” polimorfizminin MK gelişme riskini artırabileceği düşünülmüştür (Rezaei ve ark. 2016).

1.9. SDBH Hastalarında VEGF Polimorfizmi

"HD" tedavisi gören hastalarda, “VEGF” (-936C/T) “rs3025039” polimorfizminin durumu ve geç dönem arteriyovenöz fistül trombozunda “VEGF-B” seviyeleri çalışılmış, VEGF-936C/C genotipini taşıyan bireylerde AV fistül trombozu riskinde artış bulunmuştur. Bu genotipi bulunduran hastalarda, diğer böbrek replasman tedavilerinin de göz önüne alınması gerektiği düşünülmüştür (Candan, Yıldız, & Kayataş, 2014).

Diyaliz hastalarında “rs699947” polimorfizminin yüksek kardiyovasküler mortalite riski ile ilşkili olabileceği düşünülmüştür. Yapılan bir çalışmada, diyaliz hastalarında vasküler süreçlerde yer alan genlerin “SNPleri” ile mortalite arasındaki ilişkiyi araştırmak amaçlamış; “VEGF” genindeki bir “SNP'nin” diyaliz hastalarının eşlik eden komplikasyonlarına katkıda bulunabileceğine dair yeni bulgular ortaya konmuştur. Çalışmada, “VEGF rs699947” AA genotipinin geniş çaplı bir diyaliz hastaları kohortunda tüm nedenlere bağlı mortaliteyle ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Rothuizen ve ark. 2015).

Hispanik Amerikalı bir popülasyonda, “VEGF”: -2578 C>A “rs699947”, -1154 G>A “rs1570360”, -460 C>T “rs833061”, ve +936 C>T “rs3025039” polimorfizmlerinin hipertansif nefropati ile ilişkili olduğu bulunmuştur: “VEGF” “rs1570360” AA genotipi, hipertansif nefropati hastalarında, kontrollere kıyasla anlamlı derecede daha yüksek frekansta bulunmuştur. Haplotip analizi, Hispanik hastalarda iki haplotipin, CGTC ve CATC (sırasıyla “VEGF” -2578 C>A (rs699947), -1154 G>A (rs1570360), -460 C>T (rs833061), ve +936 C>T (3025039)), hipertansif nefropati ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu, ortaya koymuştur (J. W. Yang, 2011).

2. LİTERATÜR TARAMASI

Rothuizen ve ark., vasküler proseslerde yer alan genlerin “SNPleri” ile diyaliz hastalarındaki mortalite arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. 1330 diyaliz hastasında endotelyal fonksiyon, vasküler dönüşüm, hücre proliferasyonu, inflamasyon, pıhtılaşma ve kalsiyum/fosfat metabolizmasıyla ilgili 25 genin 42 “SNP'si” genotiplendirilmiştir. “SNPlerin” 5 yıllık kardiyovasküler ve kardiyovasküler olmayan mortaliteye etkisi araştırılmıştır. Mortalite oranının 114/1000 kişi-yıl olduğu ve toplam mortalitenin %49.4'ünün kardiyovasküler olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, “VEGF rs699947” AA genotipinin, son derece geniş bir diyaliz hastası kohortunda tüm nedenlere bağlı mortalite ile ilişkili olduğu, öte yandan, diğer 41 “SNP” ile anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı ortaya konmuştur. (Rothuizen ve ark. 2015).

Prakash ve ark., “VEGF” gen polimorfizmlerinden, “-2578 C/A, -2549 18 bp I/D, -1154 G/A ve +936 C/T’nin, Kuzey Hindistan'daki hastalarda "SDBH" için yatkınlık markırı olarak rolünü araştırmışlardır. “VEGF” gen polimorfizmlerini, 300 hastada ve etnik olarak eşleşen ve herhangi bir böbrek hastalığı olmayan 350 sağlıklı kontrolde genotiplendirmişlerdir. Bu markırlar, ARMS-PCR ve PCR-RFLP yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Hastalar, histopatolojik alt tipleri baz alınarak kronik glomerülonefrit (CGN = 109), hipertansif nefroskleroz (HTN = 106) ve kronik interstisyel nefrit (CIN = 60) şeklinde kategorilere ayrılmıştır. Kuzey Hindistanlı popülasyonda, “VEGF” -2578C ve -2549D alelleri, SDBH “ettirgen” alelleri olarak bulunmuştur. Sırasıyla CGN, HTN ve CIN arasındaki + 936C/T polimorfizminin T aleli frekanslarında anlamlı farklılıklar olduğu gözlenmiştir. “VEGF” -1154 AA genotipi ve A aleli CGN ile anlamlı şekilde ilişkili bulunmuştur. T–G–A–D, T–A–C–I, C–G–A–D, C–A–C–D, C–G–C–I, C–A–A–D ve T–G–C–D altta yatan hastalığa bakılmaksızın tüm "SDBH" hastalarında bulunan yedi haplotip olarak tespit edilmiştir. C–G–C–D & C–G–A–I haplotipleri, CGN ve CIN'de risk ilişkisi sergilerken, C–A–C–I'nın HTN'de predispozan bir role sahip olduğu gözlenmiştir. Sonuçlar, “SDBH” genelinde ve Kuzey Hint popülasyonundaki üç ana

böbrek hastalığında, incelenen "VEGF" polimorfizmlerinin rolünü göstermiştir (Prakash ve ark. 2012).

Lu ve ark., "VEGFA" polimorfizmleri ile Diyabetik Retinopati (DR) riski arasındaki ilişkiyi açıklığa kavuşturmak için gerçekleştirdikleri meta-analizde "VEGFA" geni "rs699947" ve "rs2010963" polimorfizmlerini incelemişlerdir. "rs699947" polimorfizmi için toplam sekiz çalışma (1204 vaka ve 1198 kontrol) ve "rs2010963" polimorfizmi için on çalışma (1666 vaka ve 1782 kontrol) meta-analiz kapsamında yer almıştır. Sonuçlar, "rs699947" polimorfizminin homojen bir kodominant model ("AA vs. CC: OR = 1.69, %95 CI = 1.03-2.77, p = 0.040") ve baskın bir model ("AA + AC vs. CC: OR = 1.38, %95 CI = 1.01-1.90, p = 0.040") altında, DR ile düşük seviyede ilişkili olduğunu, buna karşın "rs2010963" polimorfizmi ile DR arasındaki ilişkinin tüm genetik modeller altında anlamlı olmadığını göstermiştir (tüm $p > 0.05$). Meta-analiz, aykırı değerlerin çıkarılmasından sonra "rs699947" polimorfizmi ile DR arasındaki anlamlı ilişkiyi ve "rs2010963" polimorfizminin DR ile ilişkili olmayabileceğini doğrulamıştır (Lu, Ge, Shi, Yin, & Huang, 2013).

Y. Zhang ve ark., "VEGFA" polimorfizminin romatoid artrit (RA) yatkınlığına katkıda bulunabileceği hipoteziyle, Çinli bir popülasyondaki 329 RA hastası ve 697 kontrolde "VEGFA" rs699947 C/A, "rs2010963" G/C ve "rs3025039" C/T gen polimorfizmlerini araştırmışlardır. Genotiplendirme matriks destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş süresi kütle spektrometresi (MALDI-TOF-MS) kullanılarak yapılmış ve sonuçlar $\chi 2$ testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Bulgular, fonksiyonel SNP, "VEGFA" "rs699947" C/A'nın yaşlı hastalarda ve anti-siklik sitrülinlenmiş peptit antikoru (ACPA)-negatif hastalarda, RA riskini azaltabileceğini düşündürmüştür. Ancak sonuçların orta büyüklükte bir örneklemden elde edildiği ve bu nedenle, bir ön sonuç olduğu bildirilmiştir (Y. Zhang ve ark. 2013).

Hsiao ve ark., "VEGF" 2578 C/A, 634 G/C, ve 936 C/T'nin, tiroit kanseri gelişimi ve lenf nodülü metastazı üzerindeki genetik etkilerini değerlendirmiştir. Bu çalışma için toplam 332 vaka ve 261 kontrol kullanılmıştır. Çalışmada en önemli bulgu, 2578 C/A ("rs699947") A allelinin, tiroid kanseri riskini artırmış olması olarak bildirilmiştir. "rs699947" A alleli, erkeklerde tiroit kanseri gelişimi ve bölgesel lenf nodu metastazı

riskini arttırmış ancak diğer iki “SNP”, anlamlı sonuçlar vermemiştir (Hsiao ve ark. 2007).

Rezaei ve ark., İran'ın güneydoğusundaki bir İran popülasyonunda, “VEGF rs3025039” (+936C/T), “rs2010963” (+405C/G), “rs833061” (-460T/C), “rs699947” (-2578C/A) ve rs35569394 (18-bp I/D) polimorfizmlerinin meme kanseri (MK) riski üzerindeki etkilerini değerlendirmiş ve “VEGF” gen varyantlarının MK riski ile ilişkili olduğunu gösteren önceki çalışmalara açıklık getirmiştir. Bu vaka-kontrol çalışması 250 MK hastasında ve 215 sağlıklı kadında yapılmıştır. Polimorfizmlerin genotiplendirilmesi için PCR-RFLP metodu kullanılmıştır. Sonuçlar, “VEGF rs699947” A allelinin MK riskini arttırdığını göstermiştir (OR = 1.47, %95 CI = 1.12–1.92, P = 0.005). “VEGF rs3025039”, “rs2010963”, “rs833061” ve rs35569394 varyantları MK riski veya MK'den korunmayla ilişkili bulunmamıştır. Sonuç olarak, “VEGF rs699947” polimorfizminin MK gelişimi riskini artırabileceği düşünülmüştür (Rezaei ve ark. 2016).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grupları

Bu çalışmanın etik onayı, 27/04/2017 tarih ve 2017/132 sayı ile "Diyaliz hastalarında VEGF rs699947 polimorfizminin değerlendirmesi" başlıklı mevcut tezin çalışılmasından önce, Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından verildi. Çalışmada yer alan, Türk popülasyonundaki "SDBH" olan bireyler ve sağlıklı kontrol grubu bireyleri, Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç hastalıkları AD., Nefroloji BD. Polikliniğine başvuran olgulardan seçildi. Çalışmadaki hasta sayısı, 50 "SDBH" olan birey, 30 sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 80'dir. Bu çalışmada, olgulara ilişkin veriler; yaş, cinsiyet, kilo, boy, beden kitle indeksi (BKİ), serum kreatinin, aile öyküsü, kronik glomerülonefrit, hipertansiyon, kistik böbrek hastalığı, böbrek taşı, vaskülit öyküsü, kan basıncı, glomerüler filtrasyon hızı (eGFR), idrar kreatinin, kullanılan diyaliz türü ("hemodiyaliz" veya periton diyaliz), alkol ve sigara kullanımı bilgileri "hasta ve kontrol grubu sorgulama kriterleri formu"na işlenmiş ve sonrasında DNA izolasyonunda kullanılmak üzere, olgulardan 1'er adet EDTA'lı tüpe kan örneği alınmıştır. Çalışmaya katılan tüm olgular, bilgilendirilmiş gönüllü olur formlarını imzalamış ve çalışmaya katılmayı kabul etmişlerdir.

3.2. Ekipman

3.2.1. Kimyasal Maddeler

- % 96-100 Etanol
- DNA izolasyon kiti içeriği (Norgen Biotek Corp):
  - Proteinaz K
  - Liziz Tamponu
  - Yıkama Solüsyonu I
  - Yıkama Solüsyonu II
  - Elüsyon Tamponu
- KASP Master Mix (LGC-KASP V4.0 2x Master Mix) içeriği:

    - FAM ve HEX boyaları, Süksinimid ester (ROX) pasif referans boya, Taq polimeraz ve serbest nükleotidler, MgCl2
- KASP Assay Mix (LGC) içeriği:
    - İleri primer 1(primer Alel FAM) [CAGTCTGATTATCCACCCAGATCT]
    - İleri primer 2(primer Alel HEX) [AGTCTGATTATCCACCCAGATCG]
    - Geri primer (primer ortak) [TATGCCAGCTGTAGGCCAGACC]

3.2.2. Araçlar ve Cihazlar

- Santrifüj (Wisespin CF_10).
- Mikropipet (10-100 µl ve 100-1000) (Microlit)
- Mikropipet uçları (100 µl ve 1000 µl) (Biologix)
- DNA İzolasyon Mini Kit (Norgen Biotek Corp)
    - Elüsyon tüpü (1,7 ml)
    - Toplama tüpü
    - Spin Kolonları
- Otoklav (Daihan WiseClave)
- Su banyosu (Miprolab)
- Vorteks (Dragonlab MX-F)
- Eldivenler (Beybi)
- Parafilm (Parafilm M)
- FRET plaka okuyucu (BMG Omega Plaka okuyucu)
- Optik plaka kapatıcı (K-SEAL yarı otomatik termal kapatıcı)
- Thermocycler (LGC HydroCycler 4)
- PCR mikrotitrasyon plakası (Pro384)

3.3. DNA İzolasyonu

1. 20 µl Proteinaz K mikrosantrifüj tüpüne koyuldu (kullanım öncesi vortekslendi).

2. 100 µl kan örneği proteinaz K içeren tüp içine aktarıldı.
3. Kan ve Proteinaz K içeren mikrosantrifüj tüpüne 300 µl Liziz Tamponu ilave edildi, 10 saniye vorteks ile karıştırıldı ve spin atıldı.
4. Mikrosantrifüj tüpü 10 dakika 55^{o}C sıcaklıktaki su banyosuna koyuldu.
5. Örneğe 250 µl %96-100 etanol eklendi ve 10 saniye vorteks ile karıştırıldı ve spin atıldı.
6. Kolon toplama tüpüne yerleştirildi ve lizat kolona aktarıldı.
7. Lizat 1 dakika boyunca 8000 RPM'de santrifüjlendi.
8. Akan sıvı uzaklaştırıldı, toplama tüpü yeniden birleştirildi. Tüm lizat hacmi kolondan geçmediyse, 2 dakika daha santrifüjlendi.
9. 500 µl Yıkama Solüsyonu I kolona eklendi ve 8000 RPM'de 1 dakika santrifüjlendi. Akan sıvı atıldı ve spin kolonu toplama tüpü ile yeniden birleştirildi.
10. 500 µl Yıkama Solüsyonu II kolona eklendi ve 14000 RPM'de 1 dakika santrifüjlendi. Akan sıvı atıldı ve spin kolonu toplama tüpü ile yeniden birleştirildi.
11. 500 µl Yıkama Solüsyonu II kolona eklendi ve 14000 RPM'de 1 dakika santrifüjlendi. Akan sıvı atıldı ve spin kolonu toplama tüpü ile yeniden birleştirildi.
12. Kolon iyice kuruması için 14000 RPM'de 2 dakika döndürüldü. Toplama tüpü uzaklaştırıldı.
13. Kolon, 1,7 ml kapasiteli elüsyon tüpüne koyuldu.
14. Kolona 100 µl Elüsyon Tamponu ilave edildi.
15. Kolon, 1 dakika oda sıcaklığındaki tutuldu.
16. Kolon, 14000 RPM'de 1 dakika boyunca santrifüjlendi.

3.4. KASP Genotipleme Reaksiyonu

Kompetitif alel spesifik pcr (kasp) genotipleme analizi

Kompetitif Alel Spesifik PCR (KASP) teknolojisi, çift boyama kullanılan genotipleme tekniğidir. KASP'de, iki alele özgü ileri primerlerin ve bir ortak geri primerin kullanımı temel alınmıştır. KASP, "floresan işaretli alel spesifik PCR" yöntemine dayanan bir sistemdir.

KASP sisteminde, tüm etiketler (floresan boyalar) PCR için gerekli kimyasallar ile birlikte bir reaksiyon karışımında bir taşıyıcıya yerleştirilir. Böylece, işaretli prob hazırlama zorunluluğu ortadan kalkar. Bu şekilde, tek bir reaktif karışım, tüm değişiklikler için kullanılabilir.

KASP genotipleme reaksiyonu aşağıdaki üç unsurdan oluşmaktadır

- DNA örneği
- KASP Assay mix (hedefe özgü primerler içerir)
- KASP Master mix

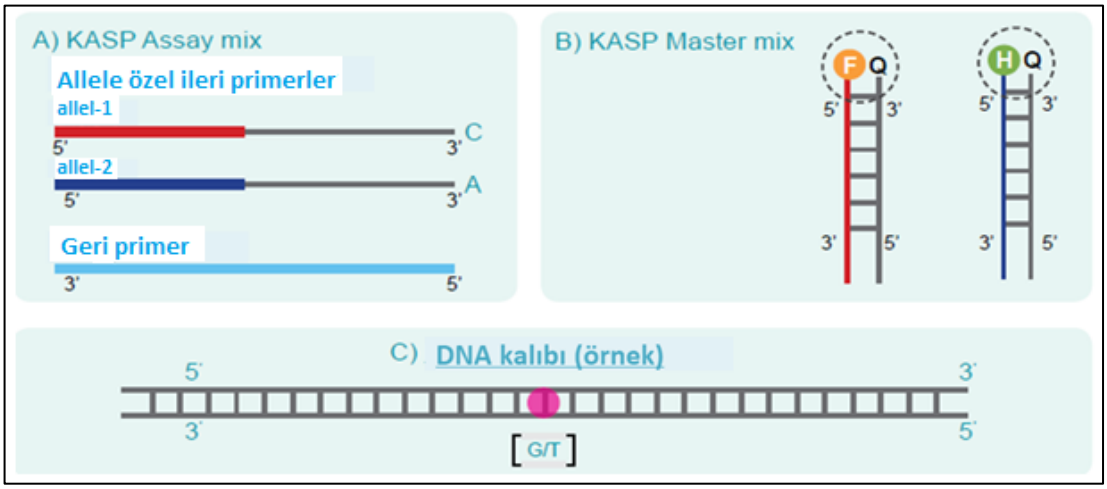
KASP reaksiyon bileşenleri.

KASP assay mix

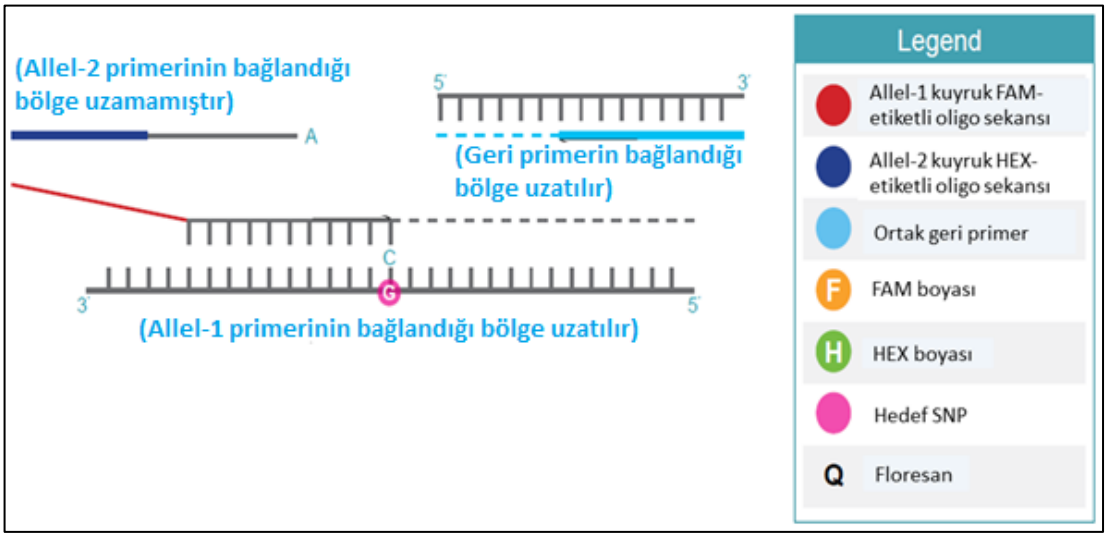
Karışımda iki ileri alele özgü primer ve bir geri primer bulunur. İki evrensel FRET'den (floresan rezonans enerji transferi) biriyle eşleşen ek bir kuyruk sekansı, ileri primerlere eklenmiştir. KASP Master mix de aynı sisteme sahiptir.

KASP master mix

KASP Master karışımı, optimum tampon çözeltisinde iki evrensel FRET kaseti (FAM ve HEX), süksinimid ester (ROX) pasif referans boyası, kuyruk polimeraz (Taq polimeraz), serbest nükleotidler ve MgCl2'yi içerir ve 2x konsantrasyonundadır.

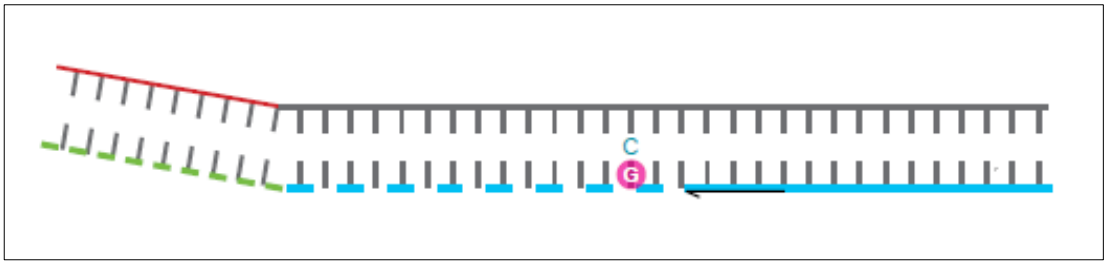


Şekil 3.1. KASP tekniği için assay bileşenleri (www.lgcgenomics.com).



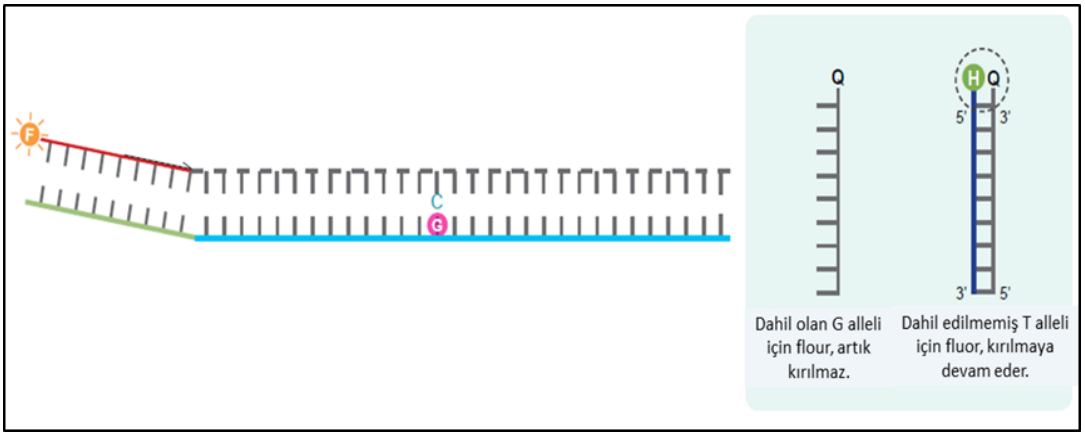
Şekil 3.2. PCR 1. aşama (www.lgcgenomics.com).

PCR'nin ilk aşamasında (PCR 1) allel spesifik primer, hedef SNP'ile eşleşir ve istenen bölge reverse primer ile uzatılır.



Şekil 3.3. PCR 2. aşama (www.lgcgenomics.com).

PCR 2. aşamada; reverse primer allel-1 kuyruğuna bağlanır, ve ilgili bölgenin uzaması gerçekleşir.



Şekil 3.4. PCR 3. aşama (www. lgcgenomics.com)

PCR 3. aşamada, FAM-etiketli oligo, yeni oluşan komplementer kuyruk dizisine bağlanır ve artık parçalanmaz. PCR'ın ilerleyen aşamalarında, allel spesifik kuyruk dizileri çoğaltılır. FRET kasedinin flor etiketli kısmı, yeni kuyruk dizilerine komplementerdir ve bir floresan sinyali oluşturarak bağlanır.

KASP genotipleme

1. DNA örnekleri bir pipet kullanılarak 96 kuyucuklu plaka içine dağıtıldı. Her plakaya No-template kontroller (NTC) eklendi.
2. KASP genotipleme karışımının 96 kuyucuklu plaka için gerekli reaktif hacimleri ayrıntılı olarak Tablo 3-1'de verilmiştir. Tüm reaktifler kullanımdan önce hafifçe vortekslendi. Gerçekleştirilecek reaksiyonların sayısı ve olası bir ölü hacim için yeterli genotipleme karışımı hazırlandı.

Tablo 3.1. KASP genotipleme reaksiyonları için reaktif hacimleri.

	96 kuyucuklu plaka (kuyucuk başına µl)
DNA	5
KASP Master karışımı	10
KASP Primer karışımı	0,1375
Distile Su	4,8625
Total Reaksiyon Hacmi	20

3. Gerekli miktardaki genotipleme karışımı (15 µl), 96 kuyucuklu Assay plaka plakasındaki her bir 5 µl DNA örneğine, bir pipet ile eklendi.
4. Plakanın kuyucukları kapatıcı cihaz ile kapatıldı ve ≥550 x g'de santrifüjlendi.
5. Plaka thermal cycler'a yerleştirildi. Tablo 3.2'deki PCR protokolü kullanıldı.

Tablo 3.2. KASP genotipleme reaksiyonlarının termal döngü koşulları.

Sıcaklık	Süre	Döngü başına adım sayısı
94 ^{0}C	15 dakika	X1 defa
94 ^{0}C	20 saniye	X10 defa
61 ^{0}C	60 saniye	
94 ^{0}C	20 saniye	X26 defa
55 ^{0}C	60 saniye	

6. Termal döngünün tamamlanmasından sonra, reaksiyon plakları, BMG Omega F cihazı ile 40°C'de okundu.
7. Veri analizinde, grafik elde etmek için veriler SNPviewer (LGC) (www.lgcgroup.com/software) yazılım paketine aktarıldı. Verilerin grafiği çizildi ve genotip analiz edildi. Grafiklerdeki noktalar, olguların genotiplerini şu şekilde gösterdi: **Yabanıl tip=FAM boya ve mavi renk**, **SNP=HEX boya ve kırmızı renk**, **heterozigot bireyler=her iki boya ve yeşil renk.**

3.5. İstatiksel Analiz

Olgu ve kontrol gruplarının genotip dağılımı, Hardy-Weinberg dengesinin (HWE) öngördüğü değerlerle ki-kare testi kullanılarak karşılaştırıldı. Sürekli değişkenler ortalama ± SS (Standart Sapma) olarak ifade edildi ve anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak tanımlandı. Demografik ve klinik veriler Mann-Whitney U test kullanılarak karşılaştırıldı. Olgu ve kontrol grupları arasındaki genotipik frekansların farklılıkları, Pearson'ın ki-kare testi ile tahmin edildi. SPSS 18.0 yazılımı (SPSS Inc. Released 2009. PASW Statistics for Windows, Version 18.0. Chicago: SPSS Inc.) tüm istatistiksel analizleri değerlendirmek için kullanıldı.

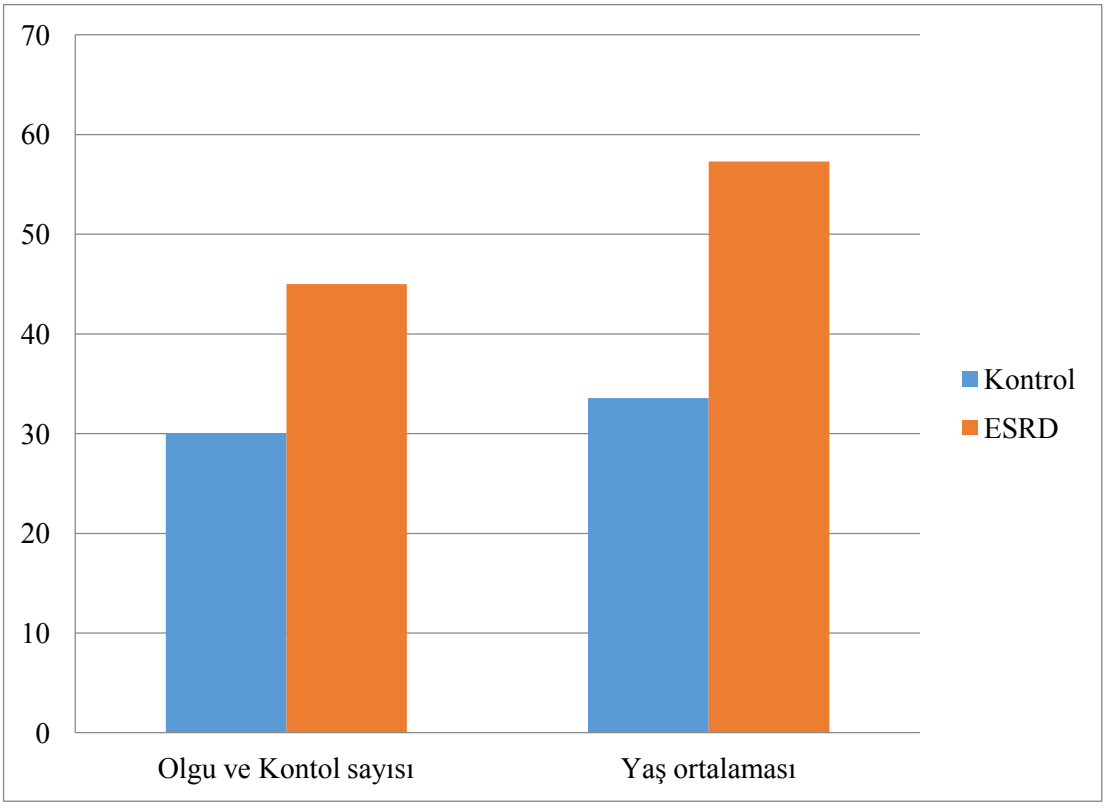
4. BULGULAR

Bu çalışma, "SDBH" bulunan 50 hasta ile 30 kontrol üzerinde yürütüldü. Çalışmaya alınan "SDBH" hasta grubunun yaş ortalaması 57,29, kontrol grubunun yaş ortalaması 33,57 olarak bulundu. SDBY olgu ve kontrol grubunun ortalama serum kreatinini sırasıyla 6,48 ve 0,77 olarak bulundu (Tablo 4-1, Grafik 4-1,4-2). Yaş ve serum kreatinin ortalama değerleri hesaplandı ve istatistiksel farklılıklar Mann-Whitney U testi" ile karşılaştırıldı. Bu çalışmada, yaş ve serum kreatinin düzeyi, SDBH ve kontrol grupları arasında anlamlı derecede farklı bulundu (p=0,000)

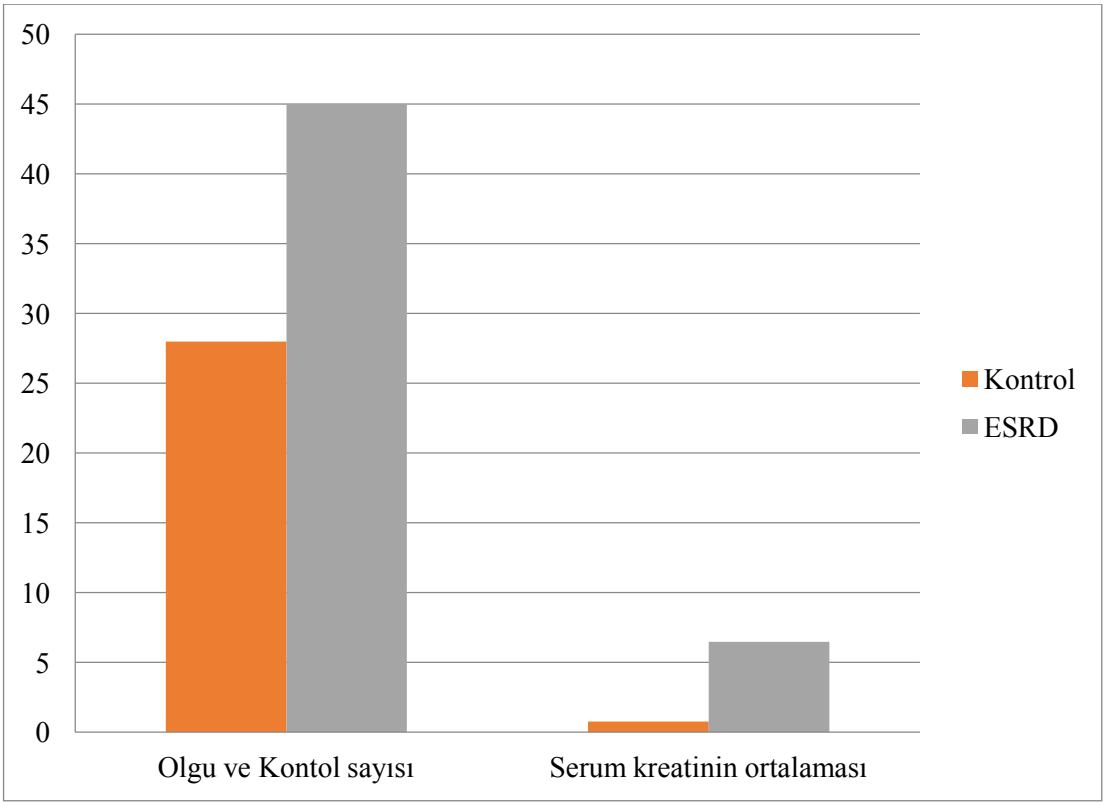
Tablo 4.1. SDBH hastalarının ve kontrol grubunun demografik ve klinik özellikleri

Özellikler	**SDBH Grubu Sayısı**	**SDBH (ortalama ± SS)**	**Kontrol Grubu Sayısı**	**Kontrol (ortalama ± SS)**	**Mann-Whitney U Testi p-değeri***
Yaş, yıl (ortalama ± SS)	45	57,29±16,38	30	33,57±11,69	0,000*
Serum kreatinin	45	6,48±2,18	28	0,77±0,16	0,000*

*p değerinin 0.05'ten küçük olduğunu gösterir.

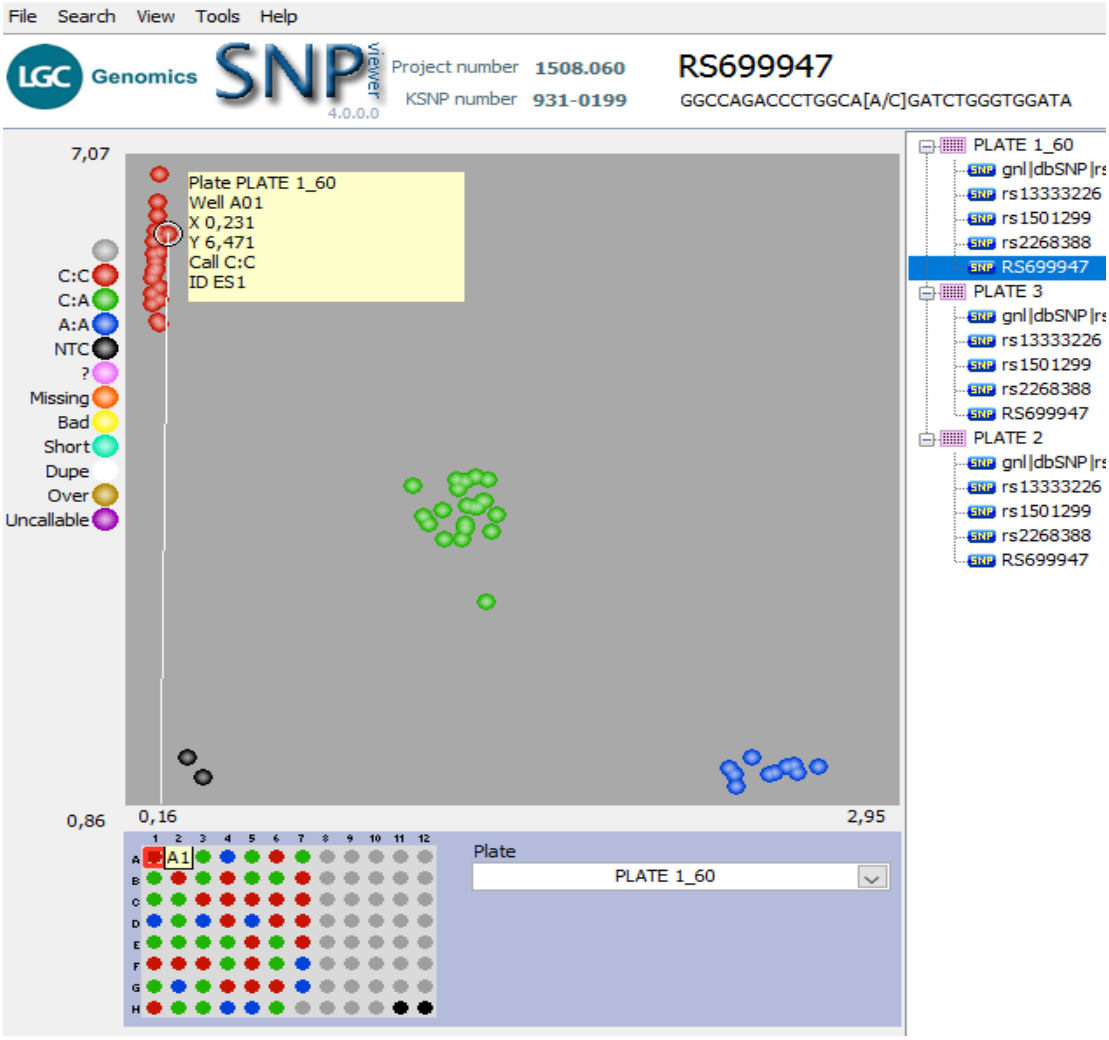


Grafik 4.1. SDBH hasta ve kontrol grupları arasındaki ortalama yaş değerleri.

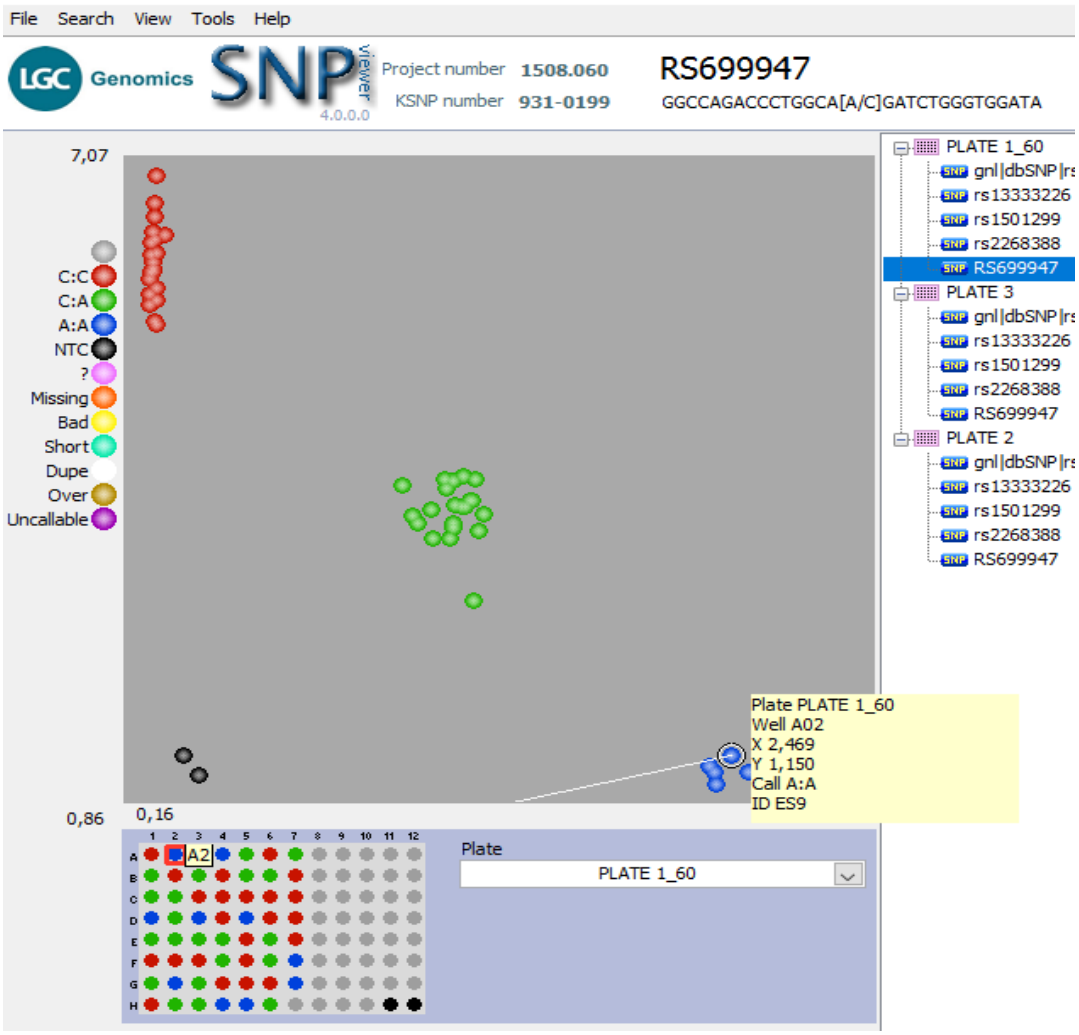


Grafik 4.2. SDBH hasta ve kontrol grupları arasındaki ortalama serum kreatinin değerleri.

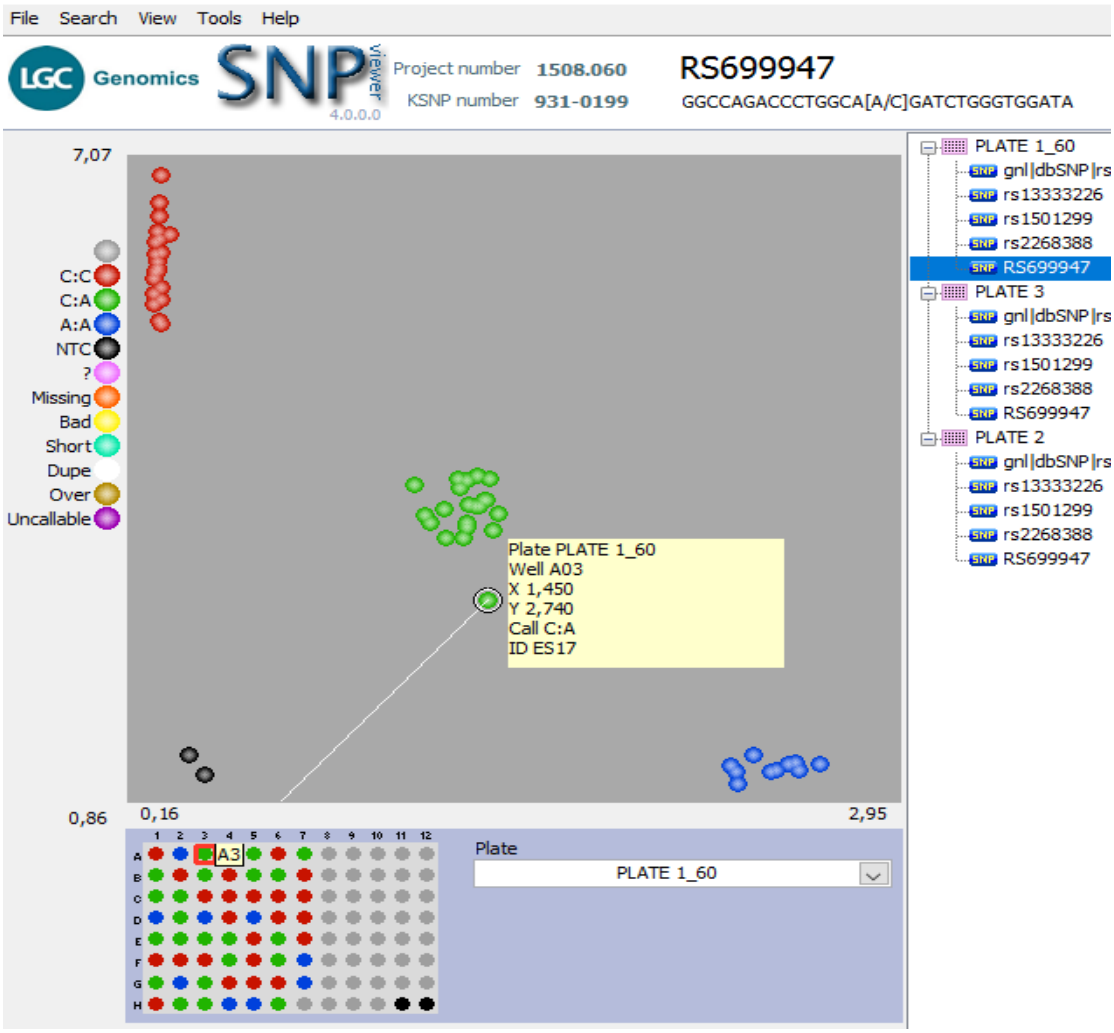
Bu çalışmada, KASP tekniği kullanılarak genotipleme yapıldı ve sonuçlar grafikler oluşturan SNP viewer programı ile analiz edildi. Bazı hastaların örneklerine ilişkin analiz sonuçları, Şekil 4-1,4-2 ve 4-3'te gösterildi.



Şekil 4.1. rs699947 nin CC genotipi sergileyen ES1 nolu hastaya ait kırmızı veri noktasının gösterimi



Şekil 4.2. rs699947 nin AA genotipi sergileyen ES9 nolu hastaya ait mavi veri noktasının gösterimi.



Şekil 4.3. rs699947 nin CA genotipi sergileyen ES17 nolu hastaya ait yeşil veri noktasının gösterimi

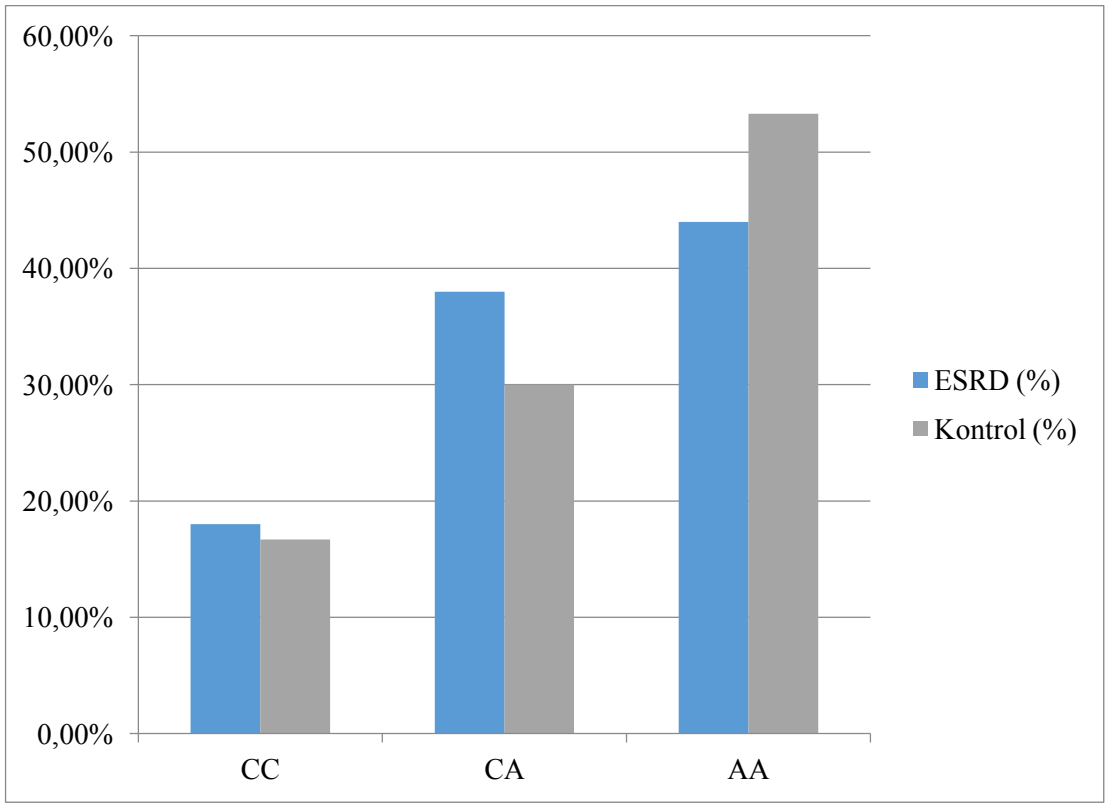
VEGF rs699947" polimorfizminin genotip frekansları her iki grup için Ki-kare testi kullanılarak analiz edildi (Tablo 4.2).

CC genotip frekansı, SDBH grubunda %18, kontrol grubunda ise %16 olarak bulundu. Heterozigot (CA) genotip frekansı, SDBH grubunda %38, kontrollerde %30 olarak bulundu. AA genotip frekansı SDBH grubunda %44 iken, kontrol grubunda %53,3 olmak üzere daha yüksek bulundu. (Tablo 4.2, Grafik 4.3).

Tablo 4.2. "rs699947" genotip dağılımları.

Genotipler rs699947	SDBH grubu n=50(%)	Kontrol grubu n=30 (%)	p-değeri
CC	9(%18,0)	5 (%16,7)	0,703
CA	19 (%38,0)	9(%30,0)	
AA	22 (%44,0)	16(%53,3)	
	HWE: 0,19	HWE: 0,093	

rs699947 polimorfizmi, SDBH grubunda ve kontrollerde Hardy-Weinberg dengesinde idi.



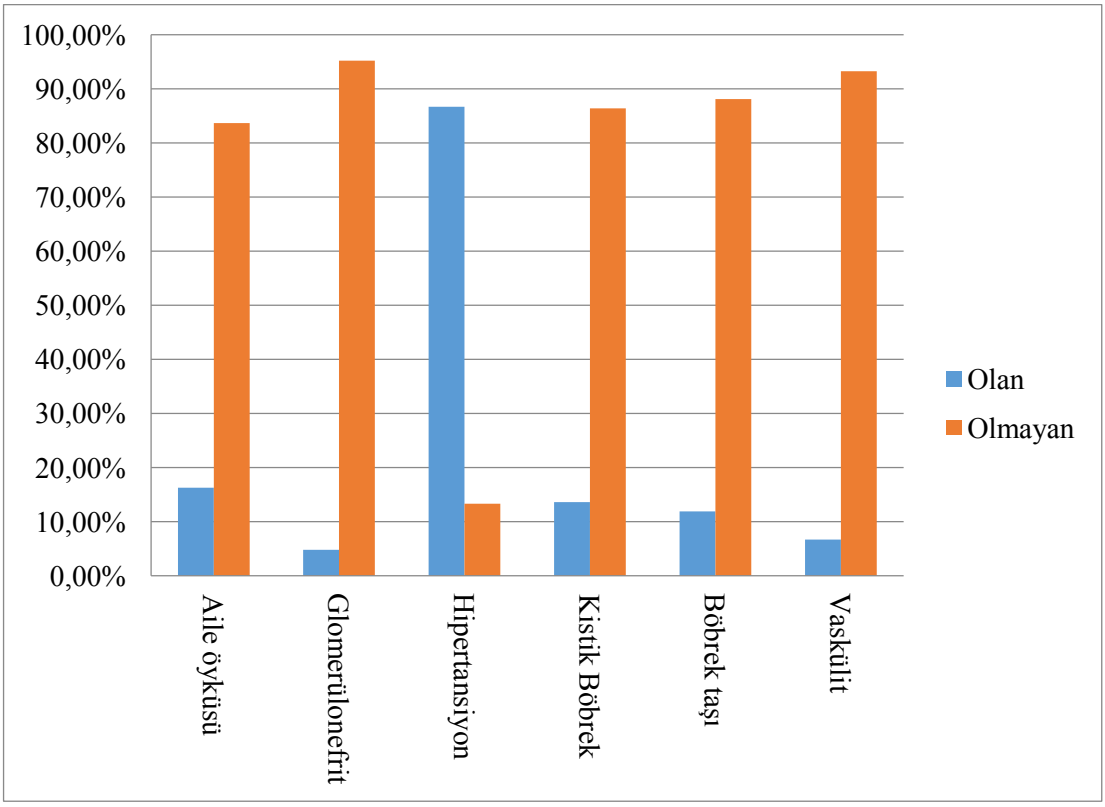
Grafik 4.3. "rs699947" genotip dağılımları (%).

Çalışmada, "SDBH" hasta grubunda klinik özelliklerden aile öyküsü, glomerülonefrit, hipertansiyon, kistik böbrek, böbrek taşı ve vaskülit öyküsü değerlendirildi. Aile öyküsü bulunan olgu sayısı 7 (%16.30) iken aile öyküsü bulunmayan olgu sayısı 36 (%83.70); glomerülonefritli olgu sayısı 2 (%4.80) iken glomerülonefriti olmayan olgu sayısı 40 (%95.20); hipertansiyonlu olgu sayısı 39

(%86.70) iken hipertansiyonu olmayan olgu sayısı 6 (%13.30); kistik böbrek olgu sayısı 6 (%13.60) iken kistik böbreği olmayan olgu sayısı 38 (%86.40); böbrek taşı olan olgu sayısı 5 (%11.90) iken böbrek taşı olmayan olgu sayısı 37 (%88.10); vaskülitli olgu sayısı 3 (%6.70) iken vasküliti olmayan olgu sayısı 42 (%93.30) olarak bulundu. Bütün bu klinik özellikler değerlendirildiğinde, hipertansiyonu olan SDBH hasta frekansının, olmayanlardan daha yüksek olduğu görüldü (Tablo 4.3, Grafik 4.3).

Tablo 4.3. SDBH grubunda klinik özelliklerin frekansının değerlendirilmesi

Klinik özellikler	Aile öyküsü bulunan/bulunmayan olgu frekansı (%)	
	Bulunan	%16,30
	Bulunmayan	%83,70
	Glomerülonefriti olan/olmayan olgu frekansı (%)	
	Olan	%4,80
	Olmayan	%95,20
	Hipertansiyonu olan/olmayan olgu frekansı (%)	
	Olan	%86,70
	Olmayan	%13,30
	Kistik böbreği olan/olmayan olgu frekansı (%)	
	Olan	%13,60
	Olmayan	%86,40
	Böbrek taşı olan/olmayan olgu frekansı (%)	
	Olan	%11,90
	Olmayan	%88,10
	Vasküliti olan/olmayan olgu frekansı (%)	
	Olan	%6,70
	Olmayan	%93,30



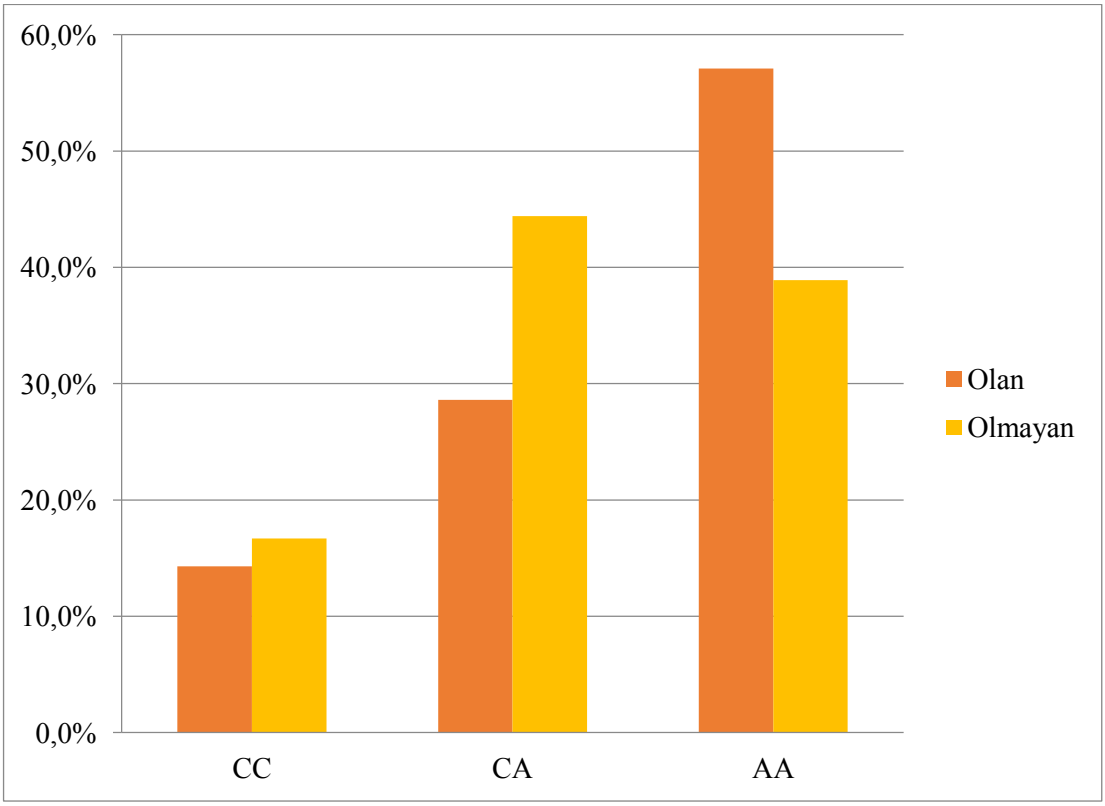
Grafik 4.4. SDBH grubunda klinik özelliklerin frekansının değerlendirilmesi.

"SDBH" grubunda klinik özelliklerin, "rs699947" genotipleri (CC, CA, AA) ile ilişkisi değerlendirilmiş ve "SDBH" grubunun klinik özellikleri ile "rs699947" genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir birliktelik bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8 ve 4.9 ve Grafik 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9 ve 4.10).

"SDBH" grubunda aile öyküsü değerlendirildiğinde, aile öyküsü bulunup CC genotipi olan 1 (%14,30), CA genotipi olan 2 (%28,60), AA genotipi olan 4 (% 57,10) olgu; aile öyküsü bulunmayıp, CC genotipi olan 6 (%16,70), CA genotipi olan 16 (%44,40), AA genotipi olan 14 (%38,90) olgu bulundu (Tablo 4.4 ve Grafik 4.5). Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi (P=0,657).

Tablo 4.4 SDBH grubunda aile öyküsünün, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi

	rs699947					
Aile Öyküsü			CC	CA	AA	p değeri
	Olan	Olgu sayısı	1	2	4	0,657
		%	%14,30	%28,60	%57,10	
	Olmayan	Olgu sayısı	6	16	14	
		%	%16,70	%44,40	%38,90	

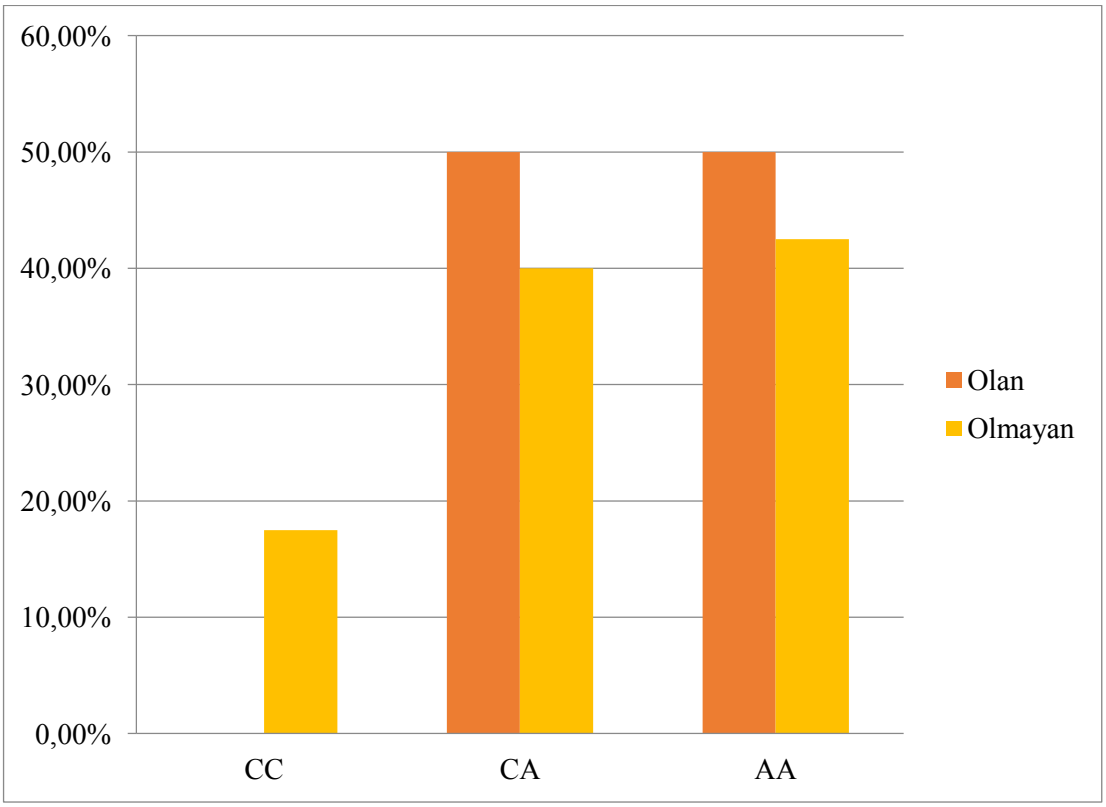


Grafik 4.5.SDBH grubunda aile öyküsünün, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi.

SDBH grubunda glomerülonefrit değerlendirildiğinde, glomerülonefriti bulunup CC genotipi olan 0 (%0,00), CA genotipi olan 1 (%50,00), AA genotipi olan 1 (%50,00) olgu; glomerülonefriti bulunmayıp, CC genotipi olan 7 (%17,50), CA genotipi olan 16 (%40,00), AA genotipi olan 17 (%42,50) olgu bulundu (Tablo 4.5 ve Grafik 4.6). Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi (P=0,810).

Tablo 4.5. SDBH grubunda glomerülonefritin, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi

		rs699947				
Glomerülonefrit			CC	CA	AA	P değeri
	Olan	Olgu sayısı	0	1	1	0,810
		%	%0,0	%50,0	%50,00	
	Olmayan	Olgu sayısı	7	16	17	
		%	%17,5	%40,00	%42,50	

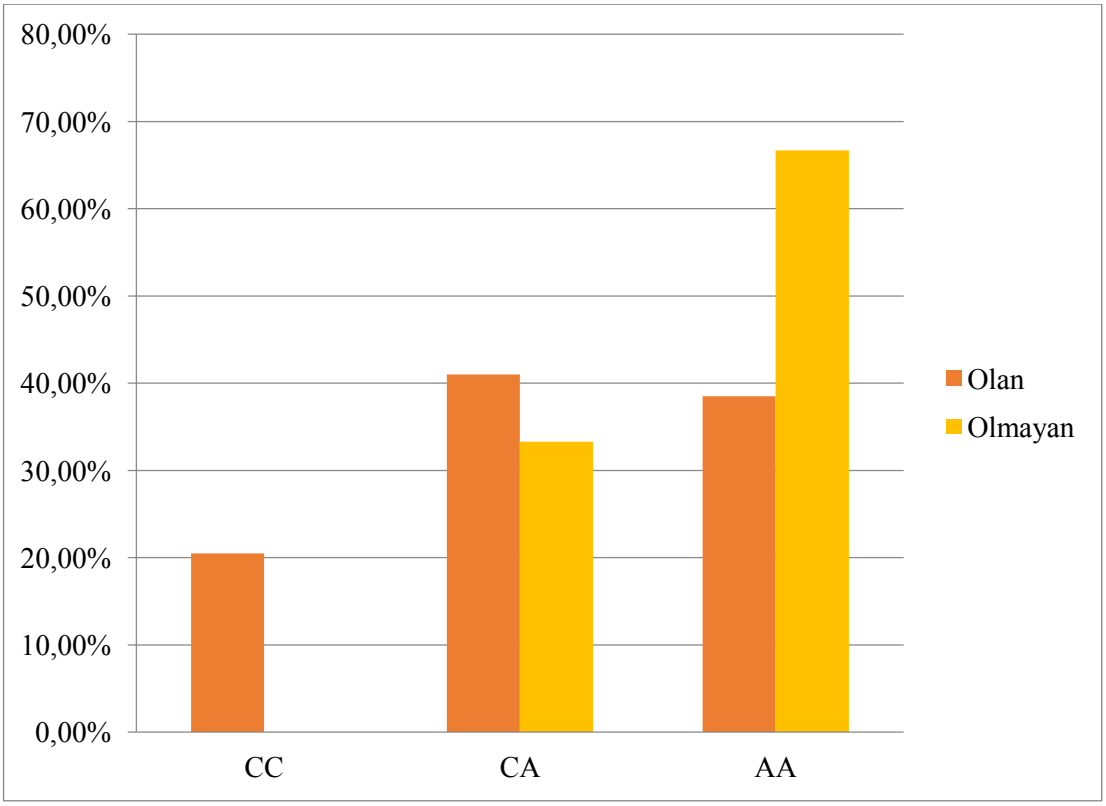


Grafik 4.6. SDBH grubunda glomerülonefritin, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi.

"SDBH" grubunda hipertansiyon değerlendirildiğinde, hipertansiyon bulunup CC genotipi olan 8 (%20,50), CA genotipi olan 16 (%41,00), AA genotipi olan 15 (%38,50) olgu; hipertansiyon bulunmayıp, CC genotipi olan 0 (%0,00), CA genotipi olan 2 (%33,3), AA genotipi olan 4 (%66,70) olgu bulundu (Tablo 4.6 ve Grafik 4.7). Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi (P=0,319).

Tablo 4.6. SDBH grubunda hipertansiyonun, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi

	rs699947					
Hipertansiyon			CC	CA	AA	p değeri
	Olan	Olgu sayısı	8	16	15	0,319
		%	%20,50	%41,0	%38,50	
	Olmayan	Olgu sayısı	0	2	4	
		%	%00,00	%33,3	%66,70	

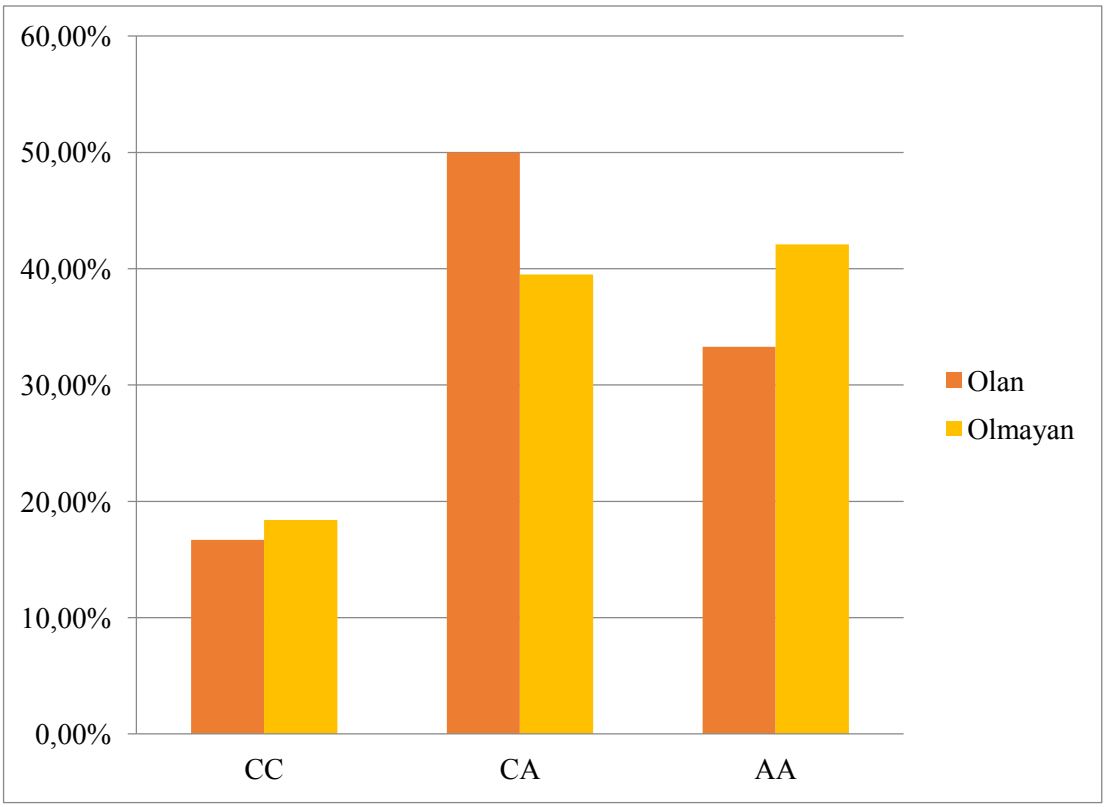


Grafik 4.7. SDBH grubunda hipertansiyonun, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi

"SDBH" grubunda kistik böbrek değerlendirildiğinde, kistik böbrek bulunup CC genotipi olan 1 (%17,70), CA genotipi olan 3 (%50,00), AA genotipi olan 2 (%33,30) olgu; kistik böbrek bulunmayıp, CC genotipi olan 7 (%18,40), CA genotipi olan 15 (%39,50), AA genotipi olan 16 (%42,10) olgu bulunmuştur (Tablo 4.7 ve Grafik 4.8). Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi (P=0,884).

Tablo 4.7. SDBH grubunda kistik böbreğin, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi

	rs699947					
Kistik Böbrek			CC	CA	AA	p değeri
	Olan	Olgu sayısı	1	3	2	0,884
		%	%16,7%	%50,0	%33,3	
	Olmayan	Olgu sayısı	7	15	16	
		%	%18,40	%39,5	%42,10	

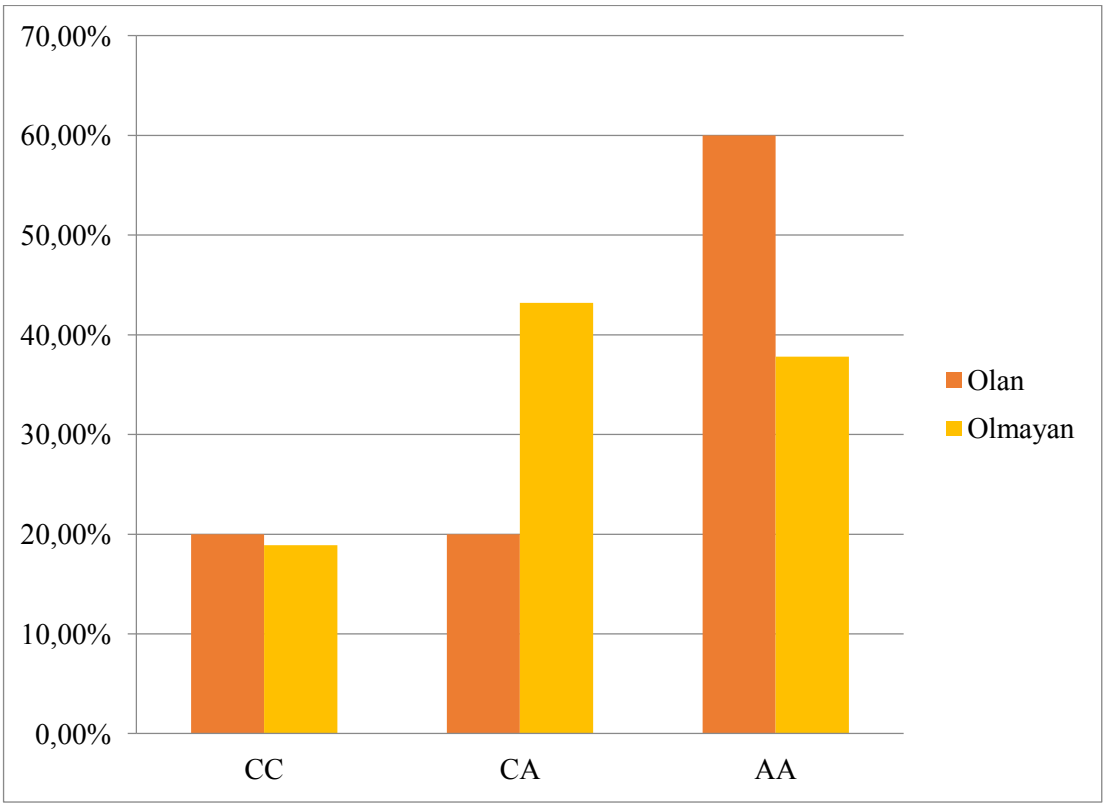


Grafik 4.8. SDBH grubunda kistik böbreğin, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi.

SDBH grubunda böbrek taşı değerlendirildiğinde, böbrek taşı bulunup CC genotipi olan 1 (%20,00), CA genotipi olan 1 (%20,00), AA genotipi olan 3 (%60,00) olgu; böbrek taşı bulunmayıp, CC genotipi olan 7 (%18,90), CA genotipi olan 16 (%43,20), AA genotipi olan 14 (%37,80) olgu bulundu (Tablo 4.8 ve Grafik 4.9). Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi (P=0,570).

Tablo 4.8. SDBH" grubunda böbrek taşının, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi

	rs699947					
Böbrek Taşı			CC	CA	AA	P değeri
	Olan	Olgu sayısı	1	1	3	0,570
		%	%20,00	%20,00	%60,00	
	Olmayan	Olgu sayısı	7	16	14	
		%	%18,90	%43,20	%37,80	

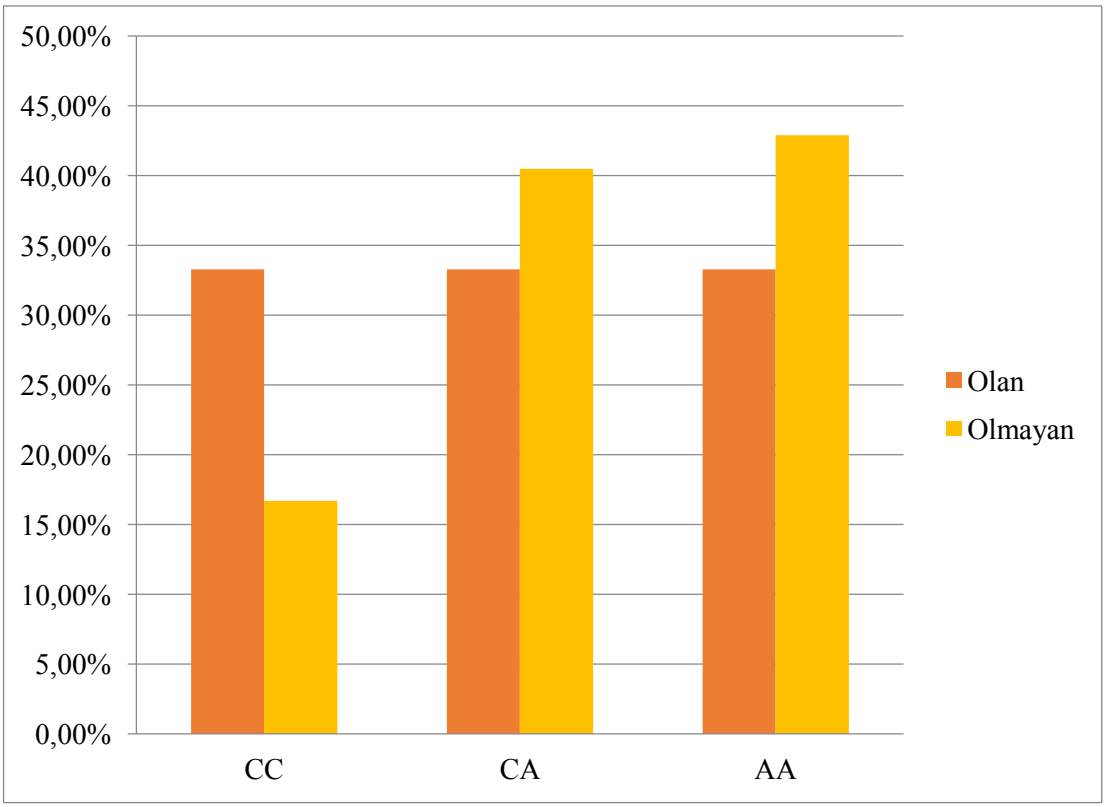


Grafik 4.9. SDBH" grubunda böbrek taşının, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi.

"SDBH" grubunda vaskülit değerlendirildiğinde, vaskülit bulunup CC genotipi olan 1 (%33,3), CA genotipi olan 1 (%33,3), AA genotipi olan 1 (%33,33) olgu; vaskülit bulunmayıp, CC genotipi olan 7 (%167,), CA genotipi olan 17 (%40,5), AA genotipi olan 18 (%42,9) olgu bulundu (Tablo 4.9 ve Grafik 4.10). Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi (P=0,766).

Tablo 4.9. SDBH grubunda vaskülitin, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi

	rs699947					
Vaskülit			CC	CA	AA	p değeri
	Olan	Olgu sayısı	1	1	1	0,766
		%	%33,3	%33,3	%33,3	
	Olmayan	Olgu sayısı	7	17	18	
		%	%16,7	%40,5	%42,9	



Grafik 4.10. SDBH" grubunda vaskülitin, "rs699947" genotipleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi.

5. TARTIŞMA

SDBH çok faktörlü bir hastalıktır. Klinik olarak, "SDBH", diyaliz ya da transplantasyondan önce böbrek fonksiyonlarının normalin %10'una gerilediği, kronik böbrek yetmezliğinin ileri bir şeklidir. Böbrek hastalıklarının fenotipik yapısının karmaşıklığı, böbrek hastalığı ilerlemesinin teşhisini ve öngörüsünü zorlaştırmakta ve her bir hasta için en uygun tedavi seçimini etkilemektedir (Tripathi ve ark. 2008). Hastalıkta etkili olabilecek genetik faktörler hakkındaki bilgi edinmek, "SDBH'nin" patofizyolojisini anlamakta fayda sağlayabilir. "SDBH" çok faktörlü bir hastalıktır ve bu nedenle çevresel faktörlerle birlikte, birçok genetik değişim bireyi "SDBH" geliştirmeye yatkın hale getirebilir (Kim & Goligorsky, 2003).

"SDBH", diyaliz veya transplantasyon formunda replasman tedavisi gerektiren üremi semptomu varlığındaki ileri böbrek hastalığına işaret eder. "SDBH" artmış kardiyovasküler mortalite ile ilişkilidir ve çalışmalar, "SDBH" hastalarında çeşitli trombotik ve inflamatuar markırların arttığını göstermektedir (Thethi, Bansal, Khan, Hoppensteadt, & Fareed, 2012). "SDBH" önemli sağlık sonuçları ve yüksek maliyetli tedavi seçenekleri olan kronik bir durumdur. (Turin ve ark. 2012).

Kromozom 6p21.3'te bulunan vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), kan damarı büyümesinin temel düzenleyicisidir ve 8 ekzondan oluşur. Endotel sağkalımın sağlanmasında ve mikrovaskülaritenin sürdürülmesinde kritik bir rol oynamaktadır. VEGF, böbrek hastalıklarında da önemli bir rol oynayan çok güçlü bir anjiyojenik ajandır (Doi, Noiri, Nakao ve ark. 2006). VEGF -2578C/A (rs 699947) polimorfizmi, "SDBH"nin ortaya çıkmasıyla ilişkili olan "SNPlerden" biri olarak gösterilmektedir (Schrijvers, Flyvbjerg, & De Vriese, 2004) ve VEGF geninin promotör bölgesinde bulunduğu için, promotör aktivitesini, dolayısıyla ekspresyon seviyelerini etkileyebilecek önemli bir "SNP" olduğu bildirilmektedir (Szeto ve ark. 2004).

"Son Dönem Böbrek Hastalığı" ile VEGF geni "SNPleri" farklı popülasyonlarda değerlendirilmesine rağmen, Türk popülasyonunda herhangi bir çalışma henüz yapılmamıştır. Çalışmamız, bildiğimiz kadarıyla, Türk popülasyonundaki ilk

çalışmadır. Çalışmamızda, "SDBH" vaka grubunda "VEGF rs699947" polimorfizminin genotip dağılımı 18,4% (9/50) CC, %38,0 (19/50) CA, %44,0 (22/50) AA olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise %16,7 (5/30) CC, %30,0 (9/30) CA ve %53,3 (16/30) AA şeklinde bulunmuştur. VEGF geninin "rs699947" polimorfizmi, KASP yöntemi kullanılarak genotiplendirilmiş ve Türk popülasyonunda "rs699947" polimorfizmi ile "SDBH" arasında bir korelasyon bulunmadığı (p=0.703) fakat bazı risk faktörlerinin varlığı ile SDBH arasında bir ilişki bulunduğu gözlenmiştir.

Prakash ve ark., Kuzey Hintli bir popülasyonda, "SDBH" için bir yatkınlık markırı olarak -2578C/A ve 3 diğer VEGF gen polimorfizminin (-2549 18 bp I/D, -1154 G/A ve +936 C/T) rolünü araştırmışlar, kronik glomerülonefrit (CGN=109), kronik interstisyel nefrit (CIN=106) ve hipertansif nefroskleroz (HTN=60) gibi birincil böbrek hastalıklarına sahip "SDBH" vakaları (n=300) üzerinde çalışmışlardır. VEGF -2578C>A polimorfizmi CC ve CA genotiplerinin, CGN ve HTN vakalarında hastalık riski ile ilişkili olduğunu gözlemişlerdir (Prakash ve ark. 2012). Çalışmamızda, "rs699947" polimorfizminin CC genotipi, CGN olgularında hastalık riski ile ilişkili bulunmamıştır, aksine birer olguda AA ve CA genotipi bulunmasıyla birlikte, bu sonuç istatistiki olarak anlamlı değildir (P=0,810). Diğer yandan Prakash ve ark., çalışmalarında, olgu ve kontrol grupları arasında, serum kreatinin açısından anlamlı farklılık olduğunu saptamışlardır (p=0.0001). Bu sonuç, serum kreatinin açısından vaka ve kontrol grupları arasında anlamlı fark olduğu gözlenen mevcut çalışmayla örtüşmektedir (p=0.000). Bu uyumluluk, risk faktörlerinin varlığı ile "SDBH" oluşumu arasında kuvvetli bir ilişki olabileceğini düşündürmektedir. Öte yandan, Prakash ve ark., Kuzey Hindistan popülasyonunda, -2578 pozisyonundaki C/A genotipi VEGF gen polimorfizmleri "rs699947" ile "SDBH" arasında bir korelasyon olduğunu gözlemiştir (P = 0,0176) (Prakash ve ark.2012). Bu durum, "rs699947" polimorfizmi ile "SDBH" arasında bir korelasyon olmayan çalışmamızla örtüşmemektedir. A alelinin riskli alel olduğu göze alındığında, AA genotip frekansının hasta grubunda (%44,0), kontrol grubundan (%53,3) daha düşük olduğu (P=0,703) bulunmuştur. Dolayısıyla çalıştığımız Türk popülasyonunda, bu polimorfizm ile "SDBH" arasında bir korelasyon bulunmamıştır.

Doi ve ark., Japon popülasyonunda VEGF genetik polimorfizmlerinin “SDBH” ile ilişkisini değerlendirdikleri çalışmalarında, 476 “SDBH” hastası ve 502 sağlıklı kontrolde, beş “SNP”nin (-1455T/C, -1154G/A, -634C/G, -1190G/A, -2578C/A) genotiplemesini yapmışlardır. Çalışmalarında, “SDBH'nin” nedenlerini kronik glomerülonefrit (n=230), diyabetik nefropati (n=129), nefroskleroz (n=62) ve çeşitli diğer koşullar (n=55) olarak bildirmişler, ancak 2578C/A (rs699947) genotip frekansları “SDBH” ile anlamlı bir ilişki göstermemiştir (Doi, Noiri, Fujita, & Tokunaga, 2006). Bu durum, “rs699947”nin “SDBH” ile ilişkili bulunmadığı mevcut çalışmayla uyumludur (P=0,703). Bu bulgular, “SDBH'nin” ortaya çıkmasında rolü olan genetik faktörler için popülasyon heterojenitesini işaret edebilir.

Earlier Reiterová ve ark., VEGF gen promotörünün –2578 C/A polimorfizminin otozomal dominant polikistik böbrek hastalığının (ODPBH), “SDBH'ye” doğru ilerlemesi üzerindeki etkisini araştırmıştır. “SDBH” geliştirme yaşı, tüm ODPBH hastalarında farklı genotiplere göre anlamlı olarak farklı bulunmamıştır. Ancak, AA genotipi (-2578C>A) olan ODPBH hastalarının (n=283), CC+CA genotipli (40,5±3,8 yıl) hastalara kıyasla daha iyi prognoza (42,7±3,5 yıl) sahip olduğunu, SDBH’yi daha geç geliştirdiğini gözlemişlerdir (p=0,01) (Reiterova ve ark. 2008). Bu sonuç mevcut çalışma açısından da düşünüldüğünde, AA genotipi “SDBH” üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olabilir.

Rothuizen ve ark., Hollanda'daki 38 diyaliz merkezinde tedavi gören “SDBH” hastalarıyla bir çalışma gerçekleştirmiştir. Toplam 1330 diyaliz hastasında, “VEGF rs699947” ve “rs2010963” dahil olmak üzere 25 gendeki 42 "SNP" için genotipleme yapılmıştır. “SNP'lerin” beş yıllık kardiyovasküler ve kardiyovasküler olmayan mortaliteye etkisi araştırılmıştır. 1330 hastanın 474'ü (%35,6) diyaliz tedavisi sürecindeki beş yıl içinde ölmüştür. Toplam mortalite oranı, 1000 kişi-yıl başına 114'tür. “VEGF rs699947” AA genotipinin artmış tüm nedenlere bağlı mortalite riski ile ilişkili olduğunu (p=0,003) ve VEGF “rs2010963”nin kardiyovasküler mortaliteyle (HR0.62; %95 CI 0,38–1,00) ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır (Rothuizen ve ark. 2015). Çalışmamızda kardiyovasküler ve kardiyovasküler olmayan mortalite araştırılamamıştır. Bulgularımız, “VEGF rs699947” AA genotipinin “SDBH” ile ilişkili olmadığını ve AA genotipinin, Türk popülasyonunda

“SDBH” için koruyucu genotip olabileceğini düşündürmektedir. Genotip frekanslarında hastalar ve kontroller arasında anlamlı bir farklılık bulunmadığı (P=0,703) gibi, AA genotip frekansı, kontrol grubunda (%53,3), SDBH hasta grubundan (%44,0) daha yüksek bulunmuştur,

Shewata Pandita ve ark,, Kuzey Hindistan popülasyonunda VEGF geni promotör polimorfizminin (-2578C>A), ODPBH ile ilişkisi üzerinde çalışmıştır, Genotipleme 123 ODPBH hastası ve 100 sağlıklı kontrol grubunda gerçekleştirilmiştir, Çalışmaya dahil edilen 123 ODPBH hastası, KBH durumlarına göre üç gruba ayrılmış; ileri evre KBH ve erken evre KBH gösteren grubun ortalama kreatinin değerleri sırasıyla 607,31±335,04 µmol/L ve 87,52±36,24 µmol/L; sağlıklı kontrollerin ortalama serum kreatinin değeri 78,68±71,6 µmol/L olarak bulunmuştur. Serum kreatinin düzeyleri açısından hastalar (ODPBH) ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılıklar bulunmuştur, bu da mevcut çalışmayla uyumludur. Mevcut çalışmada, Türk popülasyonundaki SDBH ve kontrol grupları arasında, serum kreatinin düzeyi açısından anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir (P=0,000). Bu durum, risk faktörlerinin, genotipten bağımsız olarak, “SDBH” oluşumu etkilediğini düşündürebilir. Öte yandan, -2578C>A polimorfizminin CC, CA ve AA genotiplerinin dağılım frekansı, hastalar ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir (0,31, 0,63 ve 0,06 vs 0,37, 0,44 ve 0,19) (P=0,003). -2578C>A AA genotipi, hastalarla karşılaştırıldığında kontrollerde anlamlı derecede daha fazla bulunmuştur ve bu yüzden AA genotipinin Kuzey Hindistan popülasyonunda ODPBH için koruma sağlayabileceği düşünülmüştür (Pandita ve ark. 2017). ODPBH’nin SDBH’ye ilerleme durumu göz önüne alındığında, bu durum, mevcut çalışma ile paralellik göstermektedir. “rs699947” polimorfizminin CC, CA ve AA genotiplerinin dağılım frekansı olgu grubunda %18,0, %38,0, %44,0; kontrol grubunda %16,0, %30,0, % 53,3 olarak bulunmuştur (P=0,703). Bu bulgu, AA genotipinin Türk popülasyonunda koruyucu bir genotip olduğunu işaret edebilir. “VEGF rs699947” polimorfizminin, farklı böbrek hastalıkları için farklı popülasyonlarda daha fazla olgu sayılarıyla incelenmesi gerektiği düşünülmektedir.

Jae Wook Yang ve ark., Hispanik Amerikalı bir popülasyonda VEGF -2578 C>A “rs699947”, -1154 G>A “rs1570360”, - 460 C>T “rs833061”, ve +936 C>T

“rs3025039”u hipertansif nefropati için potansiyel bir yatkınlık markırı olarak incelemişlerdir. Toplam 155 Hispanik Amerikalı canlı böbrek donörü kontrol olmak üzere; şeker hastalığı, ve diğer nedenlerin elenmesinden sonra hipertansif nöfropatiyle ilişkilendirilen toplam 86 Hispanik Amerikalı böbrek nakli hastası çalışmaya dahil edilmiştir. VEGF -1154 G>A “rs1570360”ın polimorfik A alleli, hipertansif nefropati hastalarında, kontrollerden anlamlı derecede daha yüksek frekansta bulunmuştur (hasta vs. kontrol = %42,4 vs. 23,6, P<0,001). Bu çalışmada, sadece rs1570360, böbrek transplantasyonu gerektiren "SDBH" geliştiren Hispanik hastalarda hipertansif nefropati ile anlamlı şekilde ilişkili bulunmuş olup, bizim çalışmamızda yer alan rs699947 (A alleli hasta vs. kontrol = 41,28 vs. 40,00%, P = 0,784) ilişkili bulunmamıştır (J. W. Yang ve ark. 2011). Bizim çalışmamızda, Türk popülasyonunda VEGF -2578 C>A “rs699947”, "SDBH" ile ilişkili bulunmamıştır (P=0,319). Sonuçlarımız, AA genotipinin, "SDBH" vakalarının hipertansif olmayan bölümünde koruyucu etkisi olabileceğini düşündürmüştür; hipertansif SDBH olgularında AA genotipi %38,50, hipertansif olmayanlarda ise %66,70 olarak bulunmuştur, bununla birlikte bu sonuç, istatistiki olarak anlamlı değildir (p = 0.319).

6. SONUÇ

VEGF geninin "rs699947" polimorfizminin SDBH ile ilişkisini ortaya koyan çalışmalar farklı popülasyonlarda gerçekleştirilmiş olmasına karşın, bildiğimiz kadarıyla şimdiye kadar Türk popülasyonunda böyle bir çalışma yapılmamıştır, bu sebeple bizim çalışmamız, bu konudaki ilk çalışmadır.

Bulgularımız, VEGF geninin "rs699947" polimorfizminin, SDBH ile istatistiksel olarak ilişkili olmadığını, ancak yaş ve serum kreatinin değerleri açısından olgu ve kontroller arasında anlamlı farklılık olduğunu; AA genotip frekansının olgu grubu ile karşılaştırıldığında kontrol grubunda yüksek olduğunu ortaya koymuştur.

Bu bulgular, AA genotipinin Türk popülasyonunda SDBH için koruyucu bir faktör olduğunun göstergesi olabilir. Bu sonucun daha geniş katılımlı bir çalışma grubuyla doğrulanması önemli görünmektedir. VEGF geni değişimlerinin, böbrek patofizyolojisinde etkili olduğu pek çok çalışmada bildirilmiş olup, bu durum göz önüne alındığında, VEGF geni polimorfizmlerinin farklı böbrek hastalıklarında ve farklı popülasyonlarda geniş kohortlu çalışmalarla değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

Al-Jaishi, A. A. (2013). *Patency and Complication Rates of the Arteriovenous Fistula: A Systematic Review.* The University of Western Ontario .

Bassiouny, K., Khalil, H., Abed-Elmageed, W. S., & El-Halfawy, K. A. (2015). Serum Cystatin-C as an Early and Efficacious Biomarker of Diabetic Nephropathy in Renal Patients. *American Journal of Medicine and Medical Sciences, 5*(5), 246-252 .

Brunner, L. S., Smeltzer, S. C. C., Bare, B. G., Hinkle, J. L., & Cheever, K. H. (2010). *Brunner & Suddarth's textbook of medical-surgical nursing* (Vol. 1): Lippincott Williams & Wilkins.

Bry, M., Kivelä, R., Leppänen, V.-M., & Alitalo, K. (2014). Vascular endothelial growth factor-B in physiology and disease. *Physiological reviews, 94*(3), 779-794 .

Candan, F., Yildiz, G & ,.Kayataş, M. (2014). Role of the VEGF 936 gene polymorphism and VEGF-A levels in the late-term arteriovenous fistula thrombosis in patients undergoing hemodialysis. *International urology and nephrology, 46*(9), 1815-1823 .

de Vin, F., Rutherford, P., & Faict, D. (2009). Intraperitoneal administration of drugs in peritoneal dialysis patients: a review of compatibility and guidance for clinical use. *Peritoneal dialysis international, 29*(1), 5-15 .

Dell'Aquila, R., Berlingò, G., Pellanda, M., & Contestabile, A .(2009) .Continuous ambulatory peritoneal dialysis and automated peritoneal dialysis: are there differences in outcome? *Peritoneal Dialysis-From Basic Concepts to Clinical Excellence* (Vol. 163, pp. 292-299): Karger Publishers.

Doi, K., Noiri, E., Fujita ,T., & Tokunaga, K. (2006). Non-association of VEGF genetic polymorphisms in promoter–5′ UTR with end-stage renal disease. *Nephrology Dialysis Transplantation, 21*(4), 1124-1125 .

Doi, K., Noiri, E., Nakao, A., Fujita, T., Kobayashi, S., & Tokunaga, K. (20 .(06 Functional polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene are associated with development of end-stage renal disease in males. *Journal of the American Society of Nephrology, 17*(3), 823-830 .

Foote, E. F., & Manley, H. J. (2008). Hemodialysis and peritoneal dialysis. *Pharmacotherapy: a pathophysiologic approach. New York: McGraw-Hill Medical*, 105-106 .

Freathy, R. M., Weedon, M. N., Shields, B., Hitman, G. A., Walker, M., McCarthy, M. I., Frayling, T. M. (2006). Functional variation in VEGF is not associated

with type 2 diabetes in a United Kingdom Caucasian population. *JOP, 7*(3), 295-302 .

Genomics, L. (2013). KASP™ Genotyping Chemistry User Guide and Manual. *LGC Limited, Teddington, UK* .

Ghonemy, T. A., Farag, S. E., Soliman, S .A., Amin, E. M., & Zidan, A. A. (2016). Vascular access complications and risk factors in hemodialysis patients: A single center study. *Alexandria Journal of Medicine, 52*(1), 67-71 .

Giannattasio, M., Buemi, M., Caputo, F., Viglino, G., & Verrina, E. (200 .(3Can peritoneal dialysis be used as a long term therapy for end stage renal disease? *International urology and nephrology, 35*(4), 569-577 .

Griffin, T. J., & Smith, L. M. (2000). Single-nucleotide polymorphism analysis by MALDI–TOF mass spectrometry. *Trends in biotechnology, 18*(2), 77-84 .

Han, L., Zhang, L., Xing, W., Zhuo, R., Lin, X., Hao, Y., . . . Zhao, J. (2014). The associations between VEGF gene polymorphisms and diabetic retinopathy susceptibility: a meta-analysis of 11 case-control studies. *Journal of diabetes research, 2014* .

Hassanien, A. A., Majeed, A., Watt, H., & Basri, N. (2013). Review of pre end-stage renal disease care in the western region in Saudi Arabia. *journal of Diabetes Research and Clinical Metabolism, 2*(1), 12 .

Himmelfarb ,J., & Ikizler, T. A. (2010). Hemodialysis. *New England Journal of Medicine, 363*(19), 1833-1845 .

Hoeben, A., Landuyt, B., Highley, M. S., Wildiers, H., Van Oosterom, A. T., & De Bruijn, E. A. (2004). Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Pharmacological reviews, 56*(4), 549-580 .

Hsiao, P.-J., Lu, M.-Y., Chiang, F.-Y., Shin, S.-J., Tai, Y.-D., & Juo, S.-H. H. (2007). Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in thyroid cancer. *Journal of Endocrinology, 195*(2), 265-270 .

HWANG, S .J., TSAI, J. C., & CHEN, H. C. (2010). Epidemiology, impact and preventive care of chronic kidney disease in Taiwan. *Nephrology, 15*(s2), 3-9 .

Jacobs, E. J., Feigelson, H. S., Bain, E. B., Brady, K. A., Rodriguez, C., Stevens, V. L., . . . Calle, E. E .(2006) .Polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene and breast cancer in the Cancer Prevention Study II cohort. *Breast Cancer Research, 8*(2), 1 .

Kazancioğlu, R. (2013). Risk factors for chronic kidney disease: an update. *Kidney international supplements, 3*(4), 368-371 .

Kim, B.-S., & Goligorsky, M. S. (2003). Role of VEGF in kidney development, microvascular maintenance and pathophysiology of renal disease. *The Korean journal of internal medicine, 18*(2), 65-75 .

Lu, Y., Ge, Y., Shi, Y., Yin, J., & Huang, Z. (2013). Two polymorphisms (rs699947, rs2010963) in the VEGFA gene and diabetic retinopathy: an updated meta-analysis. *BMC ophthalmology, 13*(1), 56 .

Mahboob rahman, Shad, & Smith. (2012). "Acute Kidney Injury: A Guide to Diagnosis and Management." *American Family Physician* 86.

Maisonneuve, P., Agodoa, L., Gellert, R., Stewart, J. H., Buccianti, G., Lowenfels, A. B., Briggs, D. (1999). Cancer in patients on dialysis for end-stage renal disease: an international collaborative study. *The Lancet, 354*(9173),93-99.

Murphree, D. D., & Thelen, S. M. (2010). Chronic kidney disease in primary care. *The Journal of the American Board of Family Medicine, 23*(4), 542-550 .

Oliveira, A. P. B., Schmidt, D. B., Amatneeks, T. M., Santos, J. C. d., Cavallet, L. H. R., & Michel, R. B. (2016). Quality of life in hemodialysis patients and the relationship with mortality, hospitalizations and poor treatment adherence. *Jornal Brasileiro de Nefrologia, 38*(4), 411-420 .

Pandita, S., Maurya, D., Ramachandran, V., Verma, J., Kohli ,S., Saxena, R., & Verma, I. C. (2017). Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Gene Promoter Polymorphisms and Disease Progression in North Indian Cohort with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine (IJMCM), 6*(3), 0-0 .

Pasala, S., & Carmody, J. B. (2016). How to use… serum creatinine, cystatin C and GFR. *Archives of disease in childhood-Education & practice edition*, edpract-2016-311062 .

Pastan, S., & Bailey, J. (1998). Dialysis therapy .*New England Journal of Medicine, 338*(20), 1428-1437.

Prakash, S., Prasad, N., Sharma, R. K., Faridi, R. M., & Agrawal, S. (2012). Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in North Indian patients with end stage renal disease. *Cytokine, 58*(2),266-261.

Rabindranath, K. S., Adams, J., Ali, T. Z., Daly, C., Vale, L., & MacLeod, A. M. (2007). Automated vs continuous ambulatory peritoneal dialysis: a systematic review of randomized controlled trials. *Nephrology Dialysis Transplantation, .22*(10), 2998-2991.

Reiterova, J., Obeidova, H., Leníček, M., Štekrová, J., Merta, M., Maixnerova, D., Tesař, V. (2008). Influence of VEGF polymorphism on progression of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Kidney and Blood Pressure Research,* . 31(6),403-398.

Rezaei, M., Hashemi, M., Sanaei, S., Mashhadi, M. A., & Taheri, M. (2016). Association Between Vascular Endothelial Growth Factor Gene Polymorphisms with Breast Cancer Risk in an Iranian Population. *Breast Cancer: Basic and Clinical Research* .85 ,10 ,

Rogers, M. S., & D'Amato, R. J. (2012). Common polymorphisms in angiogenesis. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine, 2*(11), a006510 .

Roskoski, R. (2007). Vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in tumor progression. *Critical reviews in oncology/hematology, 62*(3), 179-213 .

Rothuizen, T. C., Ocak, G., Verschuren, J. J., Dekker, F. W., Rabelink, T. J., Jukema, J. W., & Rotmans, J. I. (2015). Candidate gene analysis of mortality in dialysis patients. *PloS one, 10*(11), e0143079 .

Sa-nguanraksa, D. (2012). The role of vascular endothelial growth factor a polymorphisms in breast cancer. *International journal of molecular sciences, 13*(11), 14845-14864 .

Safránková, H., Merta, M., Reiterová, J., Stekrová, J., Maixnerová, D., Rysavá, R . . ,. .Tesar, V. (2011). The influence of vascular endothelial growth factor (VEGF) polymorphism on the progression of chronic glomerulonephritides. *Folia biologica, 57*(4), 145 .

Santoro, D., Benedetto, F., Mondello, P., Pipitò, N., Barillà, D., Spinelli ,F., . . . Buemi, M. (2014). Vascular access for hemodialysis: current perspectives. *Int J Nephrol Renovasc Dis, 7*(1), 281-294 .

Sarnak, M. J., Levey, A. S., Schoolwerth, A. C., Coresh, J., Culleton, B., Hamm, L. L., . . . Klag, M. J. (2003). Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease a statement from the American Heart Association Councils on kidney in cardiovascular disease, high blood pressure research, clinical cardiology, and epidemiology and prevention. *Circulation, 1* ,(17)08 .2169-2154

Schork, N. J., Fallin, D., & Lanchbury, J. S. (2000). Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. *Clinical genetics, 58*(4), 250-264 .

Schrier, R. W., Wang, W., Poole, B., & Mitra, A. (2004). Acute renal failure: definitions, diagnosis, pathogenesis, and therapy. *The Journal of clinical investigation, 114*(1), 5-14 .

Schrijvers, B. F., Flyvbjerg, A., & De Vriese, A. S. (2004). The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in renal pathophysiology. *Kidney international, 65*(6), 2003-2017 .

Smith, K. (2002). Genetic Polymorphism and SNPs: Genotyping, Haplotype Assembly Problem, Haplotype Map. *Functional Genomics and Proteomics. School of Computer Science, McGill University* .

Stevens, L. A., Coresh, J., Greene, T., & Levey, A. S. (2006). Assessing kidney function—measured and estimated glomerular filtration rate. *New England Journal of Medicine, 354*(23), 2473-2483 .

Stuart, S., Booth, T. C., Cash, C. J., Hameeduddin, A., Goode, J. A., Harvey, C., & Malhotra, A. (2009). Complications of Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis 1. *Radiographics, 29*(2), 441-460 .

Szeto, C.-C., Chow, K.-M., Poon, P., Szeto, C. Y.-K., Wong, T. Y.-H., & Li, P. K.-T. (2004). Genetic polymorphism of VEGF: impact on longitudinal change of peritoneal transport and survival of peritoneal dialysis patients. *Kidney international, 65*(5), 1947-1955 .

Takahashi, H., & Shibuya, M. (2005). The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clinical science, 109*(3), 227-241 .

Tammela, T., Enholm, B., Alitalo, K., & Paavonen, K. (2005). The biology of vascular endothelial growth factors. *Cardiovascular research, 65*(3), 550-563 .

Tanner, G. A. (2009). Kidney function *In Medical physiology: Principles for clinicalmedicine* (pp. 391-418): Baltimore, Maryland, Lippincott Williams and Wilkins.

Thethi, I., Bansal, V., Khan, H., Hoppensteadt, D., & Fareed, J. (2012). Assessment of levels of vascular endothelial growth factor in patients with ESRD and its possible role in cardiovascular morbidity and mortality. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis, 18*(5), 534-537 .

Thomas, R., Kanso, A., & Sedor, J. R. (2008). Chronic kidney disease and its complications. *Primary care :Clinics in office practice, 35*(2), 329-344 .

Thomson, P. C. (2010). *A study of the complications associated with haemodialysis vascular access in patients with renal failure.* University of Glasgow .

Tonelli, M., Wiebe, N., Culleton, B., House, A., Rabbat, C., Fok, M., . . . Garg, A. X. (2006). Chronic kidney disease and mortality risk: a systematic review. *Journal of the American Society of Nephrology, 17*(7), 2034-2047 .

Tripathi, G., Sharma, R. K., Baburaj, V. P., Sankhwar, S. N., Jafar, T., & Agrawal, S. (2008). Genetic risk factors for renal failure among north Indian ESRD patients. *Clinical biochemistry, 41*(7), 525-531 .

Trust, U. H. B. N. f. (2016). Introduction To Haemodialysis. http://www.uhb.nhs.uk/, Erişim Tarihi 20/4/2017.

Tu, J., Wang, S., Zhao, J., Zhu, J., Sheng, L., Sheng, Y., . . . Tian, J. (2014). rs833061 and rs699947 on promoter gene of vascular endothelial growth factor (VEGF) and associated lung cancer susceptibility and survival: a meta-analysis. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research, 20*, 2520 .

Turin, T. C., Tonelli, M., Manns, B. J., Ahmed, S. B., Ravani, P., James, M., & Hemmelgarn, B. R. (2012). Lifetime risk of ESRD. *Journal of the American Society of Nephrology, 23*(9), 1569-1578 .

URL-1.KASP genotyping, Accessed from http://www.lgcgenomic.com on 7/11/2017.

varrier, m ,.fisher, r., & ostermann, m. acute kidney injury-an update .

Yang, F., Khin, L.-W., Lau, T., Chua, H.-R., Vathsala, A., Lee, E., & Luo, N. (2015). Hemodialysis versus Peritoneal Dialysis: A Comparison of Survival Outcomes in South-East Asian Patients with End-Stage Renal Disease. *PloS one, 10*(10), e0140195 .

Yang, J. W., Hutchinson, I. V., Shah, T., Fang, J., & Min, D. I. (2011). Gene polymorphism of vascular endothelial growth factor− 1154 G> A is associated with hypertensive nephropathy in a Hispanic population. *Molecular biology reports, 38*(4), 2417-2425 .

Zhang, J. L., Rusinek, H., Chandarana, H., & Lee, V. S. (2013). Functional MRI of the kidneys. *Journal of Magnetic Resonance Imaging, 37*(2), 282-293 .

Zhang, Y., Qiu, H., Zhang, H., Wang, L., Zhuang, C., & Liu, R. (2013). Vascular endothelial growth factor A (VEGFA) polymorphisms in Chinese patients with rheumatoid arthritis. *Scandinavian journal of rheumatology, 42*(5), 344-348 .

Zoccali, C., Kramer, A., J, K., & Jager. (2009). Chronic kidney disease and end-stage renal disease—a review produced to contribute to the report 'the status of health in the European union: towards a healthier Europe' *NDT Plus*. Clinical Kidney Jour: Oxford University.

ÖZGEÇMİŞ



Adi soyadi : Nisrin MOHAMED H. BEN OSMAN

Doğum tarihi ve yeri : 24/1/1986 TAJOURA

Sosyal durum : Evli

Yabancı Dil : İngilizce

E-posta : nisrin_m_o@yahoo.com

Eğitim Bilgileri:

Lise : AL Thawra Alarabiya

Lisans : Tripoli Üniversitesi

: Tıbbi Teknoloji Fakültesi - Patoloji Bölümü

İş Deneyimi

İş yeri : Tripoli Üniversitesi